Gyógyszertudományok Doktori Iskola

AZ ÉHEZÉS ÉS AZ ELHÍZÁS HŐSZABÁLYOZÁSRA KIFEJTETT HATÁSAI

Doktori (PhD) értekezés

Solymár Margit

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Barthó Loránd

Programvezető: Prof. Dr. Pintér Erika

Témavezető: Prof. Dr. Szelényi Zoltán

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
Pécs, 2011

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS 5

1.1 ÁLTALÁNOS BEVEZETÉS 5

1.2. AZ ENERGIAHÁZTARTÁS EGYENSÚLYA 7

1.3. A MAGHŐMÉRSÉKLET NAPSZAKI INGADOZÁSA 9

1.4. A TESTHŐMÉRSÉKLETET BEFOLYÁSOLÓ SZABÁLYOZÓ TÉNYEZŐK 9

1.5. ÉHEZÉS HATÁSA A MAGHŐMÉRSÉKLETRE ÉS AZ ÁLTALÁNOS AKTIVITÁS SZINTJÉRE 12

1.6. HŐTERMELŐ MECHANIZMUSOK SZEREPE ÉHEZÉS ALATT 12

1.7. A TRANZIENS RECEPTOR POTENCIÁL VANILLOID 1 (TRPV1) RECEPTOR ÉS SZEREPE A HŐSZABÁLYOZÁSBAN ÉHEZÉS ALATT 13

1.8. AZ ELHÍZÁS MODELLEZÉSE ÁLLATKÍSÉRLETEKBEN 14

1.9. A CILIÁRIS NEUROTROP FAKTOR LEHETSÉGES SZEREPE AZ ENERGIAFORGALOMBAN 15

2. CÉLKITŰZÉSEK, TERVEZETT VIZSGÁLATOK 17

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK 19

3.1. KÍSÉRLETI ÁLLATOK ÉS TARTÁSUK 19

3.2. MŰTÉTEK 19

3.3. A MAGHŐMÉRSÉKLET ÉS LOKOMOTOROS AKTIVITÁS FOLYAMATOS MÉRÉSE TELEMETRIÁS MÓDSZERREL 20

3.4. A TELJES ÉHEZÉS IDŐTARTAMA 21

3.5. OZMOTIKUS MINIPUMPA BEÜLTETÉSE 21

3.6. A FARMAKOLÓGIAI MÓDSZEREKNÉL ALKALMAZOTT ANYAGOK 22

3.7. STATISZTIKAI PRÓBÁK 22

4. EREDMÉNYEK 23

4.1. ÉHEZÉSI HETEROTERMIA TRPV1-KO ÉS VAD TÍPUSÚ EGEREKBEN 23

4.2. ÉHEZÉS ALATT KIALAKULÓ HETEROTERMIA ÉS ÚJRATÁPLÁLÁS SORÁN LÉTREJÖVŐ NORMOTERMIA EGÉRBEN 27

4.3. TÖBBHETES TELJES ÉHEZÉS EGÉRBEN ZSÍRDÚS TÁPPAL KIVÁLTOTT ELHÍZÁST KÖVETŐEN 31

4.4. CENTRÁLIS CNTF INFÚZIÓ HATÁSA ELHÍZOTT EGEREK MAGHŐMÉRSÉKLETÉRE ÉS LOKOMOTOROS AKTIVITÁSÁRA 37

5. AZ EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE 40

5.1. ÉHEZÉSI HETEROTERMIA TRPV1-KO ÉS VAD TÍPUSÚ EGEREKBEN 40

5.2. ÉHEZÉSI HETEROTERMIA ÉS ÚJRATÁPLÁLÁS SORÁN LÉTREJÖVŐ NORMOTERMIA KIALAKULÁSA EGÉRBEN 42

5.3. TÖBBHETES TELJES ÉHEZÉS EGÉRBEN ZSÍRDÚS TÁPPAL KIVÁLTOTT ELHÍZÁST KÖVETŐEN 44

5.4. CENTRÁLIS CNTF INFÚZIÓ HATÁSA ELHÍZOTT EGEREK MAGHŐMÉRSÉKLETÉRE ÉS LOKOMOTOROS AKTIVITÁSÁRA 46

6. AZ ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA 48

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS 50

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE 51

IRODALOMJEGYZÉK 52

PUBLIKÁCIÓK 62

1. BEVEZETÉS

1.1 Általános bevezetés

Jelen dolgozat témája az éhezés és az elhízás során kialakuló energetikai szabályozás vizsgálata. Fejlődő országokban a kóros soványság/éhezés, a fejlett társadalmakban viszont az elhízás jelent fontos közegészségügyi problémát. Nemzetközi felmérések szerint 2010-ben közel egymilliárd ember éhezett világszerte (ENSZ). Az elmúlt 25 évben az Amerikai Egyesült Államokban az elhízás gyakorisága 75%-kal növekedett (Flegal et al., 2002). A Központi Statisztikai Hivatal 2009-es Egészségfelmérése szerint Magyarországon a 15 év feletti lakosság több mint felének (53,7 százalékának) az optimálisnál magasabb a testsúlya, minden ötödik felnőtt pedig elhízott.

A kóros soványodás, illetve az elhízás hátterében különböző betegségek (pl. genetikai, endokrin hatások, központi idegrendszeri betegségek), a táplálékfelvétel és/vagy az általános fizikai aktivitás megváltozása állhatnak. A táplálékfelvétel szabályozása az éhségérzet, az étvágy és a jóllakottság érzetén keresztül valósul meg. Az éhség csillapítása után az étvágy még további táplálékfelvételt indukálhat, míg étvágy hiányában az éhség által kiváltott táplálékfelvétel is csökken. Az éhségérzet tehát az élettani szükségletek függvényében változik, hatását az étvágy változása azonban jelentősen felülírhatja, emiatt az egyén az aktuális szükségleténél jelentősen kevesebb/több táplálékot vehet magához. Ez a hatás azonban normálisan csak időleges. A táplálékfelvétel szabályozásában afferens jeleknek a tápláltsági állapot, a táplálkozási állapot és a testhőmérsékleti jelek tekinthetők. A hosszú távon szabályozott tápláltsági állapot a kalóriaraktárak nagyságától függ, amiről a perifériás leptin szint, és inzulin szint ad információt. A rövidebb távon szabályozott táplálkozási állapot mutatói az éhséget, illetve jóllakottságot közvetítő idegi vagy hormonális jelek. Testhőmérsékleti jelek is befolyásolják a táplálékfelvételt: akut hideghatásra gyorsan nő, míg meleg környezetben, illetve magas maghőmérsékleten csökken a táplálékfelvétel.

Az éhezés az energiatartalmú tápanyagok általános hiánya, aminek két formája a teljes és a részleges éhezés. Az éhezéshez való alkalmazkodás az evolúció során egy sor adaptív stratégiát, összetett válaszreakciót (csökkent alapanyagcsere, ketoacidózis, ketontestek égetése a sovány testtömeg védelme érdekében) hívott létre. Míg a teljes

éhezés természeti katasztrófák, éhségsztrájk vagy anorexia nervosa körülményei között fordul elő, addig a részleges éhezés hétköznapi problémát jelent a fejlődő világban, és hazánkban is megfigyelhető a szegények és a hajléktalanok között, valamint senyvesztő betegségekben. A teljes éhezés túlélhető időtartamát a mobilizálható fehérjeraktárak és zsírraktárak nagysága szabja meg, és a halál okai a sturktúrfehérjék bontása miatt légzési nehézségek, immunhiány (fertőzések) és hipoglikémia. Az éhezés általános következményeiként a nyugalmi testhőmérséklet csökkenése, gasztrointesztinális boholyatrófia, epekőképződési hajlam, endokrin diszfunkciók, oszteoporózis és különböző személyiségzavarok alakulhatnak ki.

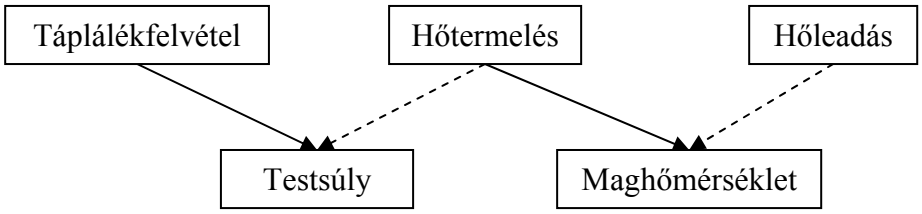
Az elhízás a zsírszövet olyan mértékű felszaporodása, amely - a kövérség mértékétől függően - károsan befolyásolja az egyén egészségi állapotát. A zsírtartalom-növekedést az energiabevitel és az energialeadás egyensúlyának hosszabb időn át tartó megbomlása eredményezi. A nagyobb zsírtömeg nagyobb testtömeget eredményez, ezért a testmagasság és a testtömeg méréséből származtatott mutatók, főként a body mass index (BMI, kg/(m)^2) segítségével ma már rutinszerűen határozhatjuk meg az egyén tápláltsági állapotát (Kuczmarski és Flegal, 2000). A BMI 25 kg/(m)^2 felett túlsúlyt, 30 kg/(m)^2 felett elhízást, 40 kg/(m)^2 felett pedig extrém elhízást jelent. A túlsúly, illetve elhízás megnöveli bizonyos daganatos betegségek, kardiovaszkuláris megbetegedés, magas vérnyomás, 2-es típusú diabetes mellitus, epekő-betegség, zsírmáj, osteoarthritis, illetve az alvási apnoe szindróma kialakulásának kockázatát (Wyatt et al., 2006).

Az örökletes elhízás a feltételezett etiológia alapján lehet monogénes elhízás (általában a központi idegrendszeri leptin/melanokortin utak valamilyen mutációja), elhízással járó szindróma (pl. Prader-Willi szindróma) vagy poligénes elhízás, ami a populációban a leggyakoribb változat. Monozigóta ikerpárok között a megfigyelhető konkordancia az elhízás vonatkozásában több mint kétszer magasabb, mint dizigóta ikrek esetén (~0,68 és ~0,28) (Wardle et al., 2008). Adoptációs vizsgálatok eredményei alapján az adoptált személy BMI-je a biológiai szülőkkel korrelál szorosabban, ami a genetikai tényezőknek a környezeti tényezőknél nagyobb fontosságára hívja fel a figyelmet (Stunkard et al., 1986). A szerzett és környezeti tényezők közül az endokrin kórképek (Cushing-kór, insulinoma), neuroendokrin kórképek (pl. hipotalamusz sérülés), pszichoszociális tényezők (gyorsételek, inaktivitás, depresszió), anyagcserebetegségek (inzulin-rezisztencia) fontossága emelendő ki.

Az elhízás kapcsán fontos a nemi különbségek és az életkori sajátosságok figyelembevétele. Azonos BMI esetén a nőknek magasabb a test zsírtartalma, és ez a zsír döntően szubkután, és nem a zsigeri szervek körül halmozódik fel (Ogden et al., 2007). A zsírszövet megoszlása két általános mintát követ: eszerint android (hasra lokalizálódó elhízás) és gynoid (csípő, comb szubkután lerakódás) típust különítünk el. Az android forma a kardiovaszkuláris megbetegedések és a 2-es típusú diabetes mellitus kialakulásának független kockázati tényezője, míg a gynoid típus esetén egyes adatok szerint fordított korreláció figyelhető meg, vagyis védő hatásúnak tartják (Wiklund et al., 2008).

1.2. Az energiaháztartás egyensúlya

Az elhízás és a kóros soványság, illetve a hőegyensúly megváltozása (hipotermia, hipertermia, láz) is az energiaháztartás egyensúlyának megváltozását jelentik. Az energiaháztartás szabályozásának tényezői kölcsönhatásban állnak egymással, melynek központi eleme az anyagcsere (energiaforgalom, vagyis hőtermelés) (1. ábra). Az energetika komplex szabályozásában, perifériás idegi és humorális afferens tényezők mellett, a centrális transzmitterek/mediátorok is jelentősek. Energetikai egyensúly esetén a testsúly és a maghőmérséklet egy normális tartományon belül marad. A testsúly szabályozásáért hosszú távon a táplálékfelvétel és az anyagcsere/hőtermelés, míg a maghőmérséklet szabályozásáért rövidtávon az anyagcsere/hőtermelés és a hőleadás felelős.



1. ábra: Az energetikai szabályozás komponensei és összefüggései (→: stimulálás, ----► : gátló hatás)

A megnövekedett táplálékbevitel csökkent hőtermeléssel együtt anabolikus állapotot jelent, a katabolikus állapot viszont a csökkent táplálékfelvétel és fokozott hőtermelés következménye. Hosszú távon az egyensúly eltolódása tehát vagy elhízáshoz, vagy kóros soványsághoz vezet. Ha a szabályozó tényezők egyes elemeit befolyásoljuk, akkor az egyensúly fenntartásához ellenregulációs lépés szükséges, pl. hipertireózisban a megnövekedett hőtermelés fokozottabb étvággyal társul.

A rövidtávú energiaegyensúly a homeoterm fajokra jellemző (madarak, emlősök). A maghőmérsékletet szabályozó tényezők a hőleadás és az energiaforgalom. A központi idegrendszeri aktív változások a testhőmérséklet szabályozott eltolódásához (láz, anapirexia) vezetnek, a szabályozás elégtelensége az ellenregulációs, vagyis a kompenzációs deficit miatt passzív hipertermiát vagy hipotermiát okoz. Heteroterm állatok hőszabályozásában nem szerepelnek jelentős tényezőként az autonóm energetikai szabályozási faktorok; ezek a fajok főként a magatartási hőszabályozásra támaszkodnak. Ezzel szemben homeoterm állatokban a hőleadás megváltozása kompenzatórikusan az anyagcsere változását vonja maga után (pl. fiziológiás körülmények között a fokozott hőleadást hidegben a hőtermelés emelkedése kíséri, a központi autonom hőszabályozás eredményeként). Másrészt az anyagcsere primer változásai a hőleadás megváltozásával járnak (pl. hipertireózisban fokozódik a hőleadás is).

Az energiaegyensúly tényezői a testtömegre és a maghőmérsékletre is hatnak. Nevezetesen, a hőszabályozás változásai a testsúlyszabályozásra is hatással vannak, jellemző példaként a hideg környezetben fokozódik a táplálékfelvétel. Ennek fordítottja az, amikor a táplálékfelvétel elsődleges megváltozása az anyagcserén keresztül a testhőmérsékletre is hatással van. Éhezésben a táplálékfelvételi változások engergetikai eltéréseket indítanak el, hatásuk a hőmérséklet szabályozásában is látható; ilyenkor csökkent anyagcsere mellett hipotermiára való hajlam figyelhető meg. A hőtermelésnek, energiaforgalomnak tehát részben a tónusos tápláltsági, részben (rövidebb távon) az aktuális táplálékfelvételi állapothoz kell igazodnia, másrészt rövidtávon egyensúlyban kell lennie a hőleadással.

1.3. A maghőmérséklet napszaki ingadozása

A homeoterm élőlényekre jellemző fiziológiás maghőmérséklet viszonylag szűk tartományon belül ingadozik. Egér esetén a maghőmérséklet a napszaki ingadozás során 36,5-38,0 °C között változik. Úgynevezett nokturnális ritmussal rendelkező állatfajokban (patkány, egér) napközben a testhőmérséklet csökkenése figyelhető meg, viszont ezek az állatok éjszaka aktívak, és ilyenkor testhőmérsékletük is magasabb. Izommunka következtében a maghőmérséklet akutan emelkedik, és meghaladhatja a nyugalmi testhőmérsékleti maximumot. A nucleus suprachiasmaticus dorzomediális, más néven köpenyi régiójában olyan sejtek találhatók, amelyek intrinsik ritmicitással rendelkeznek, amit speciális óragének szabályoznak, ez kb. 24 órás ritmust jelent (innen szárnazik a cirkadián elnevezés). A ventrolaterális, vagyis magi régió szenzoros ingerületei is ide projiciálódnak, és hatással vannak a napi ritmus fenntartására. A nucleus suprachiasmaticus más hipotalamikus magokhoz és a tobozmirigyhez is küld információkat, így szabályozva a testhőmérsékletet (Weaver et al.,1993).

Annak ellenére, hogy ez a ciklusosság a környezettől függetlenül is jelen van, a külső környezet változásainak függvényében az adott élettani paraméter hullámzásának ritmusa vagy annak amplitúdója módosulhat. A napi ritmus kialakítását így például a bejövő fény jelentősen befolyásolja, a suprachiasmaticus mag ventrolaterális régiójának működését a retinából jövő jelek is szabályozzák, és így a cirkadián endogén ú.n. szabadon futó (free-running) ritmus pontosan 24-órás napszaki ritmussá válik (Weinert, 2005).

1.4. A testhőmérsékletet befolyásoló szabályozó tényezők

A testhőmérséklet szabályozása a meleg, illetve hidegérzékeny termoreceptoroktól befutó információ központi idegrendszeri felhasználásával történik. Az információ összegzése nagyrészt, de nem kizárólagosan, a hipotalamusz feladata. A befutó hőmérsékleti jelek, illetve az általuk kiváltott transzmitter-változások módosítják a szabályozó rendszer referencia állapotát, és hőszabályozási effektor változásokat indíthatnak el (hőtermelés, hőleadás, magatartási hőszabályozás). Az úgynevezett set-point egy hőszabályozási állapot lenne, ami egy hőszabályozási

beállítási (referencia) szint. A hőszabályozási set-point elméletet napjainkban megkérdőjelezik (Romanovsky, 2007). Az új nézet elveti a set-point fogalmát, helyette az egyes termoeffektorok aktiválási küszöbének különbözőségét hangsúlyozza, és ezzel a különbséggel magyarázza a hőszabályozási válaszokban fellelhető eltéréseket, amelyek koordinált vagy inkoordinált reakció formájában egyaránt megjelenhetnek (Romanovsky, 2004, 2007). Hőszabályozási szempontból koordinált effektor reakciónak nevezzük a megnövekedett hőtermelés (lázban) és csökkent hőleadás jelenségét, illetve a csökkent hőtermelés és fokozott hőleadás együttes kombinációját (anapirexia esetén).

Az általános lokomotor aktivitás fontos szerepet játszik a kistestű rágcsálók hőszabályozásában (Mount és Willmott, 1967; Brown et al., 1991; Weinert és Waterhouse, 1998). Patkányban és egérben az aktivitás ma már széleskörben ismert hőszabályozási effektornak minősül (Hunt et al., 2010; Szentirmai et al., 2010).

A hőszabályozást befolyásoló egyéb faktorok közt tartjuk számon a táplálékfelvételt is. Hideg környezetben a fokozott hővesztés következtében nő a táplálékfelvétel, míg melegben ennek csökkenése látható. Ismert, hogy a kalorikus szabályozás és a táplálékösszetétel szabályozottsága közül élettanilag a kalorikus szabályozás tűnik fontosabbnak. Nagyon alacsony proteintartalmú keverékből álló diétán tartott patkányok nem a proteinszükségletüket fedezték, ami elkerülhetetlenül több kalória bevitelével és elhízással járt volna, hanem a kalóriabevitelt tartották stabilan, ami végül a pusztulásukat okozó proteinhiányhoz vezetett. Hideg környezetben ugyanezen a diétán probléma nélkül túléltek, mert a hideg miatt fokozott anyagcsere megemelkedett kalóriaigénye összességében elegendő fehérje bevitelét is jelentette (Andik et al., 1963).

Sokan vizsgálták különböző neuropeptideknek a hőszabályozásban játszott szerepét. A centrális neuropeptid Y (NPY) intracerebroventrikuláris (icv) injekcióját követően hideg-adaptált és nem adaptált patkányokban is akut hipotermia figyelhető meg, később viszont enyhe testhőmérséklet-emelkedést találtak (Székely et al., 2005). Termoneutrális környezeti hőmérsékleten tartott patkányokban icv infundált, kis dózisú kolecisztokinin oktapeptid (CCK-8) a napi cirkadián hőmérséklet minimiumát emelte és a lokomotoros aktivitást csökkentette (Szelényi et al., 2004a). E hatás nagy valószínűséggel centrális CCK-B receptorokon keresztül valósul meg, mivel korábbi vizsgálatokban hasonló láz-szerű hatást a B-receptor gátló csökkentette, míg a CCK-A-receptor antagonista előkezelés nem befolyásolta (Szelényi et al., 1994). Az

ugyancsak icv infundált prosztaglandin E1 jelentősen emeli a maghőmérsékletet, mégpedig a cirkadián ritmus átmeneti megszűnésével egyidejűleg (Szelényi et al., 2004a).

Az orexinek energiaegyensúlyt és hőszabályozást befolyásoló hatása is ismert. Icv adagolt orexin-A mérsékelten hűvös környezetben tartott patkányokban előbb testhőmérséklet csökkenést, majd emelkedést idézett elő, orexin-B hatására viszont csak hipotermia alakult ki (Prudian et al., 1997).

A zsírszövetből származó leptin hipotalamikus mechanizmussal hat a táplálékfelvételre és a hőszabályozásra is. E peptid a proopiomelanocortin (POMC) mechanizmus közvetítésével csökkenti a táplálékfelvételt, ugyanakkor növeli a hőtermelést (Leon et al., 2004). A plazma leptinszint csökkenésekor a NPY expressziójának növekedése és a melanokortin rendszer aktivációjának egyidejű szuppressziója jön létre (Ahima et al., 1999).

A szénhidrátanyagcsere szabályozásában kulcsszerepet játszó inzulin termoregulatórikus hatásai hasonlóak a leptinéhez: mindkét anyag katabolikus, tehát táplálékfelvételt csökkentő, illetve hőtermelést és így maghőrmérsékletet is növelő hatással rendelkezik. Perifériásan adott CCK hipotermiát idéz elő, de ez valószínűleg nem központi idegrendszeri hatás, hanem inkább a hőleadás fokozódásán keresztül megvalósuló jelenség, CCK-A receptorok segítségével (Szelényi et al., 1994).

Az ún. orexigén hormonok egyik képviselője a ghrelin, amely fokozza az étvágyat, hatására megnő a táplálékfelvétel és - következményesen - a testtömeg is. A hormon icv adagolva átmenetileg csökkenti a testhőmérsékletet, és gátolja a barna zsírszövet aktivációját. Nagy dózisban alkalmazva a ghrelin emeli a maghőmérsékletet; ez a kortikotropin releasing faktor és a hipotalamusz-hipofízis-mellékvese-tengely aktiválásán keresztül valósul meg (Leon et al., 2004). Melanokortin és agonistáinak adása testhőmérséklet emelkedéshez vezet, valószínűleg a barna zsírszövet aktiválása révén (Leon et al., 2004). Egy tanulmányban azt találták, hogy az alfa-melanocita-stimuláló hormon (α-MSH) a bőrhőmérséklet megváltoztatása (azaz csökkentése) nélkül okozott enyhe testhőmérséklet-emelkedést (Sinha et al., 2004).

A központi idegrendszer ópioid receptorai sokféle élettani működés irányításában szerepet játszanak. Régóta ismert, hogy az ópioidok, így például a morfin, egy sor testhőmérsékleti hatással rendelkeznek több fajban, így például emberben is. A morfin klasszikus (mu, delta, és kappa) receptorokon kifejtett

testhőmérsékleti hatása egérben bifázisos: alacsony dózisban hipertermiát, magasabb adagban hipotermiát okoz. (Glick, 1975; Baker és Meert, 2002; Zarrindast et al, 1994).

1.5. Éhezés hatása a maghőmérsékletre és az általános aktivitás szintjére

A táplálékbevitel csökkentése súlyosságától (részleges vagy teljes) és időtartamától függően, az energiaháztartás és így a testhőmérséklet változásait hozza létre mind kísérleti állatban, mind emberben. Az anyagcsere csökkenése az energiabevitel megszorítására adott általános válasz: egy energetikailag gazdaságos élettani reakció. A csökkent fizikai aktivitás és a test energiatartalékainak csökkenő felhasználása azonban többé-kevésbé limitálja a homeotermia fenntarthatóságát még termoneutrális körülmények között is (Pétervári et al., 2002; Overton és Williams, 2004; Wang et al., 2006).

A teljes éhezés alatt megfigyelhető heterotermia (Nagashima et al., 2003; Swoap és Gutilla, 2009) egérben a nappali hipotermia és az éjszakai normotermia ritmikus váltakozását jelenti (Schleucher és Prinziger, 2006). Ilyenkor az éjszaka megfigyelhető maghőmérsékleti normalizálódással párhuzamosan a fizikai aktivitás növekedését, mások pedig csökkenését figyelték meg (Koubi et al., 1991; Severisen és Munch, 1999). Ad libitum táplálás mellett azonban éjszaka és nappal is a motoros aktivitás a maghőmérséklet változásaival párhuzamosan alakul (Refinetti és Menaker, 1992). Az éjszakai fázisban a lokomotoros aktivitás során termelődő hő tehát fontos tényező lehet a testhőmérséklet szabályozásában. Ennek megfelelően újratáplálláskor a maghőmérséklet gyors normalizációja során szignifikáns lokomotoros aktivitásnövekedés lenne várható.

1.6. Hőtermelő mechanizmusok szerepe éhezés alatt

A motoros aktivitás, hőtermelő szerepe révén (Weinert, 1998) hőszabályzási effektor mechanizmusnak minősül. Az így termelt hőn kívül egyéb mechanizmusok is hozzájárulnak a maghőmérséklet éhezés alatti szabályozásához. A didergéses és a nem-didergéses hőtermelés is fontos lehet a kalória-restrikció által kiváltott heterotermia alatt. Didergéses hőtermelés során nagy frekvenciájú, repetitív izomösszehúzódás alakul ki, így az izom hőtermelésre képes.

A nem-didergéses hőtermelés a szimpatikus aktiváción keresztül a barna zsírszövetben lévő béta-3 receptorokra hatva uncoupling protein-1 (UCP1) transzmembrán protein segítségével szétkapcsolja az ATP termelést és az oxidatív foszforilációt, és így hő szabadul fel. A barna zsírszövet hőtermelésben résztvevő hatása régóta ismert (Szelényi és Donhoffer, 1968). Hideg környezetben vagy lázkeltők hatása alatt rágcsálók a hőtermelésüket vagy didergéses (Gordon, 1993), vagy nem-didergéses hőtermeléssel biztosítják (Székely et al., 1973; Morrison et al., 2008). Ahhoz, hogy a nem-didergéses hőtermelés szerepét vizsgáljuk, különböző gyógyszeres eszközökkel módosíthatjuk a szimpatikus tónust, erre jó példa a guanethidine perifériás injekciója (Boullin et al., 1966). Ez funkcionális szimpatektómiát eredményez úgy, hogy a szimpatikus idegvégződésekből kiüríti a noradrenalint, így perifériás hatású antiadrenerg szer. A didergés a harántcsíkolt izomzat magas frekvenciájú oszcillációjával hőt termel, amit a mephenesin, egy centrálisan ható izomrelaxáns (Griggio, 1982) gátol.

Az ópiát-mechanizmus ismert módon szerepet játszik a hideg elleni védekezésben (Gordon, 1993). 24 órás teljes éhezést követően patkányokban az agyi morfin szintnek ötszörösére, a lép morfin szintnek a normális háromszorosára való emelkedését írták le (Molina et al., 1995). Az ópiát-függő mechanizmus hőtermelő szerepét a nem specifikus ópiát-antagonista naloxonnal tesztelhetjük, ami a testhőmérsékletet csökkenteni képes (Vidal et al., 1983).

1.7. A tranziens receptor potenciál vanilloid 1 (TRPV1) receptor és szerepe a hőszabályozásban éhezés alatt

Az elsőként felfedezett hőmérsékletre is érzékeny receptor, a TRPV1 leírása (Caterina, 1997) után nagy érdeklődés övezte mind az általános hőszabályozási folyamatokban (Caterina, 2007; Szelényi et al., 2004), mind lázas folyamatokban (Iida et al., 2005) betöltött lehetséges szerepét. Habár ismert, hogy a TRPV1 szuprafiziológiás hő hatására aktiválódik in vitro körülmények között, a génhiányos (TRPV1-KO) állatok esetén megfigyelt csökkent meleg elleni védekezés a receptornak a hőszabályozásban betöltött összetettebb szerepére utal (Szelényi et al., 2004). A TRPV1-KO állatok nem reagálnak magas, szövet- és szervkárosodást előidéző hőre (43 °C felett), ugyanakkor élettani hőmérsékleti határokon belüli hőérzékelésük intakt

marad (Caterina et al., 2000). Az a megfigyelés, hogy a TRPV1-KO egerek cirkadián maghőmérséklet-ingadozásainak amplitúdója nagyobb, mint a vad típusú társaiké (Szelényi et al., 2004) valószínűsíti, hogy más energetikai állapotokban, pl. éhezéskor a TRPV1-KO egerek különleges hőszabályozási választ adnak.

A TRPV1 receptor hőszabályozásban betöltött szerepével kapcsolatban több tanulmány látott napvilágot az utóbbi években. A TRPV1 receptor hatása felerősödik savas közegben, például gyulladásban (Jordt et al., 2000). Éhezés során a metabolikus acidózis kialakulásával párhuzamosan, a TPPV1 receptorok potenciációja után a kapszaicinre vagy fájdalmas hőre adott válasz nagyobb mértékű lehet.

Kimutatták, hogy nem-termális ingerek a TRPV1 receptorokon keresztül gátolhatják a hideg elleni védekezést (Steiner et al., 2007), mert ezeknek a receptoroknak a gyógyszeres gátlása csökkentette a TRPV1 receptor aktiváló kapszaicin ill. resiniferatoxin hipertermiás hatását. A szerzők azt a következtetést vonták le, hogy a TRPV1 csatornák mindeddig ismeretlen non-termális tényezők általi tónusos aktivációja a bőr vazokonstrikcióját és a hőtermelést gátolják, így a maghőmérsékletet csökkentő hatást fejtenek ki. Ennek alapján azt feltételezhetjük, hogy bizonyos nem-termális ingerek, pl. az éhezés, a TRPV1 KO állatokban megváltoztathatja a hipotermiás választ.

1.8. Az elhízás modellezése állatkísérletekben

Az energiabevitel és leadás egyensúlyának eltolódása az előbbi javára elhízáshoz vezet, ami a zsírszövet tömegének megnövekedésével jár együtt (Weiser et al., 1997; Stunkard, 1996). Az elhízás két gyakran használt monogénes modellje a leptintermelés hiánya miatt kialakuló obezitás modell (ob/ob egerek), illetve a leptin receptor hibája miatt kialakuló elhízás modellje (db/db egerek). Az emberi elhízás esetén leggyakrabban a db/db egerekben kimutatott leptin rezisztenciát figyelték meg (Halaas et al., 1997). Az energiában gazdag táplálék könnyű hozzáférhetősége is igen fontos tényező az emberi elhízás kialakulásában. A magas zsírtartalmú diéta használatával azonban állatkísérletben is kialakítható elhízás és leptin-rezisztencia az embernél ismerthez hasonló módon (Lin et al, 2000). Zsírdús táp haszánálatával tehát az elhízás kialakulását modellezhetjük, és az elhízás elleni beavatkozásokat in vivo

kísérleti körülmények között vizsgálhatjuk. Így egy olyan modellhez juthatunk, amely az emberi obezitáshoz kórélettanilag igen hasonló (Buettner et al., 2007).

A zsírdús táp alkalmazása során az egerek elhízását három fázissal jellemezhetjük. A korai stádiumban az egerek testtömeg-növekedése mellett megtartott és megfelelő választ adnak perifériás leptin injekciókra. A középső fázisban az egerek elvesztik a perifériás leptin-érzékenységüket, mialatt a centrális leptin adás még hatást képes kiváltani. A harmadik fázisban az egerekben teljes leptinrezisztencia alakul ki (El-Haschimi et al., 2000).

1.9. A ciliáris neurotrop faktor lehetséges szerepe az energiaforgalomban

A ciliáris neurotrop faktor (CNTF) egy interleukin-6 családba tartozó citokin, ami elhízott rágcsálókban és humán kísérletekben is hosszú távon testtömegcsökkenést okoz. Növeli az energiaforgalmat és javítja az inzulin érzékenységet (Lambert et al., 2001). Centrálisan alkalmazva sejtproliferációt indukál a hipotalamusz táplálkozással összefüggő területein (Schuster et al., 2003, Kokoeva et al., 2005). A CNTF egy olyan neuroprotektív citokin, ami a centrális és perifériás idegrendszer gliasejteiben expresszálódik. Egy sor idegsejttípus differenciálódásában játszik szerepet, ezen kívül nem neurális elemeken (asztrocita, adipocita, vázizomsejt) is hatást fejt ki (Sleeman et al., 2000).

Kokoeva és munkatársai demonstrálták (Kokoeva et al., 2005), hogy a CNTF a leptin célsejtjein – nevezetesen a pro-opiomelanokortin (POMC) és az agutiszerű protein/neuropeptid Y (AgRP/NPY) neuropeptideket termelő sejteken – fejti ki hatását. A szer maradandó hatása abban áll, hogy az „új" POMC- és AgRP/NPY-sejtek endogén leptinre adott válaszkészsége nagyobb lesz elődjeikkel összehasonlítva.

Az endogén CNTF-nek szerepe lehet az elhízás elleni védelemben. A CNTF és receptora a nucleus arcuatusban expresszálódik, egy olyan hypotalamikus régióban, ami a táplálékfelvételt szabályozza. Magas szukróz tartalmú diétán tartott patkányokban a hipotalamikus CNTF szint fordítottan arányos volt a testtömeggel. Tehát az endogén CNTF magas kalóriatartalmú diétán esetleg az elhízás ellen védő faktor lehet, az elhízásra való hajlam egyéni eltéréseiben játszhat szerepet (Vacher et al., 2008).

Az elhízást enyhe krónikus gyulladásos megbetegedésnek is tekinthetjük (Das, 2001; Dandona et al., 2004; Moreno-Aliaga et al., 2005; Rana et al, 2007), ami a plazma megemelkedett gyulladásos citokin szintjeivel jár együtt (TNF-alfa, akut fázis fehérjék, pl. C-reaktív protein). Ebben az értelemben az interleukin-6 (IL-6) család néhány citokinje a gyulladásos folyamatokhoz, így az elhízáshoz is kapcsolható. Az IL-6 citokinen kívül számos más citokin tartozik az IL-6 citokin családba, úgymint az IL-11, a CNTF, a kardiotropin-1, a kardiotropin-like citiokin, a leukémia inhibitoros faktor és az onkosztatin M. Ezek a proteinek ismerten glikoprotein (gp) 130 citokinek, mert mindegyik a gp 130-on, egy általános transzducer proteinen keresztül fejti ki hatását. Habár a szerepük az elhízásban és az elhízással kapcsolatos betegségekben még vitatott, néhány tanulmány szerint a gp130 citokineknek szerepe van az elhízás és az azzal kapcsolatos inzulin-rezisztencia, zsírmáj és kardiovaszkuláris betegségek befolyásolásában (Febraio, 2007).

2. CÉLKITŰZÉSEK, TERVEZETT VIZSGÁLATOK

Az egerek kis testtömegükből adódóan relatíve nagy testfelszínnel rendelkeznek, és így az energia-megszorításra – relatíve nagyobb hőleadó testfelszinük miatt is - nagyobb maghőmérséklet-változásokkal reagálnak, mint a patkányok. Ennek megfelelően tehát alkalmasabb alanyai lehetnek olyan kutatásoknak, melyek célja a testtömeg, maghőmérséklet és a fizikai aktivitás dinamikus változásainak megfigyelése az éhezés és az újratáplálás során. Korábban leírták, hogy az egerek különböző hosszúságú éhezésre a nappali maghőmérséklet csökkenésével reagálnak, miközben a maghőmérsékletük az éjszakai periódusban megközelítőleg normális marad (Williams et al., 2002; Overton és Williams, 2004; Gelegen et al., 2006). A teljes éhezés alkalmazása ideálisnak tűnik ahhoz, hogy az állatok energetikájának dinamikus változásait követve megismerhessük azokat a lehetséges stratégiákat, amelyeknek segítségével felveszik a harcot az életet fenyegető hipotermia ellen, és mégis energiát spórolnak.

Táplálkozási állapottól függő energetikai változások megfigyelésére éhezési protokoll alkalmazásával heterotermiát indukáltunk szabadon mozgó egereken, és a maghőmérsékletet biotelemetriás módszerrel monitoroztuk. Az éhezéssel kiváltott heterotermia alatt a didergéses és a nem-didergéses hőtermelés vizsgálatát ezek specifikus gátlóinak alkalmazásával teszteltük (mephenesin és guanethidin). Emellett az ópiát-mechanizmus hőtermelésben játszott szerepét ópiát antagonista naloxon adagolásával vizsgáltuk. A didergés, a nem-didergéses hőtermelés és az ópiát-mechanizmus ismert módon szerepet játszik a hideg elleni védekezésben (Gordon, 1993). Hipotézisünk szerint a fenti gátló anyagok alkalmazása mellett a termogenezis csökkentésével befolyásolhatjuk a hipotermia mértékét, valamint újratápláláskor a maghőmérséklet emelkedésének a dinamikáját is.

A TRPV1 ioncsatorna éhezésben betöltött szerepének tisztázására TRPV1-KO és vad típusú egerek maghőmérsékletét biotelemetriás módszerrel monitoroztuk a teljes éhezési periódus előtt, közben, az újratáplálláskor és azt követően. Az éjszakai normotermia fenntartásához szükséges, a fizikai aktivitás segítségével termelt hő megfigyelésére az állatok fizikai aktivitásának változásait is nyomon követtük az éhezés során és az újratáplálást követően. Bár az éhezésre adott átmeneti hipotermiás válasz ismert (Williams et al., 2002; Overton és Williams, 2004), az éjszakai normotermia feltételezett energetikai hátterét eddig még nem vizsgálták. A

lokomotoros aktivitás megfigyelése - reményeink szerint - fényt deríthet a fizikai aktivitás hőszabályozásban betöltött szerepére, ami korábbi állatkísérletek alapján vitatott (Gordon, 1993; Girardier et al., 1995).

Teljes éhezést alkalmaztunk zsírdús diétán tartott, elhízott egerek esetén is, és a maghőmérsékletet az elhízás alatt, éhezés alatt, majd az újratáplálás során is monitoroztuk. Kíváncsiak voltunk arra, hogy az éhezés által indukált maghőmérsékleti válasz hasonlóan alakul-e elhízott egerekben, mint a kontrol, normál tápon tartott egerek esetén; valamint, hogy az éhezés végén az elhízott egerek testtömege hasonló tartományban van-e, mint a kontroll egerek esetén. Információkat szándékoztunk nyerni arról is, hogy milyen hosszú éhezést tolerálnak az egerek úgy, hogy újraetetéskor visszanyerik eredeti testtömegüket, és jellemző cirkadián ritmusukat a maghőmérséklet és a lokomotoros aktivitás tekintetében.

A CNTF-nek a testtömeg-szabályozásban és a hőszabályozásban betöltött szerepének vizsgálata céljából centrális CNTF infúziót alkalmaztunk zsírdús diétán tartott, elhízott egerekben. Kíváncsiak voltunk arra, hogy a CNTF a várt tartós testtömeg-csökkentő hatása mellett hogyan változtatja meg az elhízott egerek nokturnális ritmusát, milyen hatást fejt ki az éjszakai, ill. a nappali maghőmérsékletre, és ezek a hatások tartósan fennmaradnak-e.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Kísérleti állatok és tartásuk

A kísérletekhez C57BL/6 vad típusú hím és nőstény és TRPV1 KO hím egereket használtunk. Az egereket egyenként, kb. 3-5 cm magasan forgáccsal bélelt műanyag aljú ketrecekben tartottuk, ahol - az éhezési periódusok kivételével - a rágcsálótáp és csapvíz *ad libitum* rendelkezésre állt. A standard rágcsálótáp használata mellett egyes állatcsoportok esetén TestDiet 58Y1 (IPS Product Supplies Ltd., London, UK) típusú, az energiát 60%-ban zsírban tartalmazó tápot is használtunk. Az állatszobákban 12-12 órás sötét-világos periódusokat használtunk, a világos periódus reggel 6 órakor kezdődött (a kísérletek értékelésénél az egyes periódusok kezdőidőpontjainak megállapításához a téli/nyári időszámítást figyelembe vettük). A környezeti hőmérséklet az állatszobában 23-24 °C (hűvös környezet) illetve 27-28 °C (éppen termoneutralitásuk tartománya felett, csak a háromnapos éhezés esetén) volt. Rendszeres súlyméréssel és a kísérleti ketrecekhez való alapos szoktatással az állatokat a kísérleti körülményekhez hozzászoktattuk. Az állatok tartása és a különböző beavatkozások elvégzése az alapvető állatkísérletes etikai normák szerint, a Pécsi Tudományegyetem Állatkísérleti Etikai Bizottságának engedélyével (BA 02/2000-20/2001 és BA 02/2000-13/2006) történt.

3.2. Műtétek

A műtéteket intraperitoneálisan (ip) adott ketamin+xylazol [Calypsol (Richter) + Rometar (Spofa)] keverékkel (78 + 13 mg/kg, ip) indukált narkózisban végeztük. Fertőzések megelőzésére 0,2 mg ip gentamycint adtunk. A narkózis a műtét típusától (ip rádiotelemetriás transzmitter implantáció, minipumpa beültetés, icv kanül implantáció) függetlenül azonos volt. A műtéti hipotermia mérséklésére fűtött műtőpadot alkalmaztunk, és a narkózis után az állatokat meleg helyen tartottuk 6-10 órán át, majd az eredeti környezetbe helyeztük vissza őket. Műtét után általában minimum egy teljes hetet vártunk bármilyen következő beavatkozásig (éheztetés, újabb műtét: pl. ip transzmitter implantáció után icv kanül beépítése).

3.3. A maghőmérséklet és lokomotoros aktivitás folyamatos mérése telemetriás módszerrel

Az állatok maghőmérsékletét és általános lokomotoros aktivitását folyamatosan, telemetriás módszerrel regisztráltuk. Ez a módszer lehetővé tette szabadon mozgó körülmények között akár hetekig-hónapokig az állatok megfigyelését, szoros monitorozását. A műtétileg ip implantált rádiotelemetriás transzmitter (ER-4000 modell VMFH, Minimitter, Sunriver, OR) jeleit az állat műanyag doboza alatt elhelyezett lapos antenna fogta fel, majd a jeleket (hőmérsékletet °C-ban, aktivitást szemikvantitatív ún. „arbitrary unit”-ban kifejezve) és az adatokat, a gyártó szoftverének (VitalView) segítségével számítógépen tároltuk, és esetenként Actiview szoftverrel analizáltuk. A hasüregbe helyezett transzmitter a maghőmérsékletről és a horizontális mozgási aktivitásról küldött jeleket. Öt percenként történt minden esetben az adatgyűjtés, a feldolgozás előtt az adatokat tetszőlegesen átlagolhattuk, pl. egy órás átlagolás 12 gyűjtött adat átlagolását jelentette. Az ötperces adatok átlagolását a közölt ábrákon mindenhol feltüntettük, ha történt ilyen. Ez a módszer tette lehetővé a napszaki hőmérsékleti és aktivitási változások analízisét is.

1. kép: Bal oldalon a biotelemetriás rendszer: az állat ketrece alatt található a jelfogó antenna doboza (fekete tálca), jobb oldalon az egerekbe implantálható jeladó (transzmitter) látható.

3.4. A teljes éhezés időtartama

Kísérleteinkben a táplálékmegvonás legalább egy héttel a radiotransmitter ip implantációját követően, reggel 9:00 órakor kezdődött, és 23-24 °C-on (hűvös környezetben) 48 órán át, illetve 27-28 °C-on 72 órán keresztül tartott. A hosszabb (72 órás) éheztetés lehetővé tette az állatok energetikai változásainak hosszabb idejű megfigyelését anélkül, hogy a testsúlyvesztés mértékét jelentősen súlyosbította volna. Egy másik kísérletsorozatban 24-26 °C-on az egerek éheztetése 40 órán át tartott.

A zsírdús diétán tartott, elhízott állatok esetében a teljes éheztetés időtartama alatt is az állatok maghőmérsékletét folyamatosan monitoroztuk. Korábbi kísérleteink eredményeit felhasználva a teljes éhezést addig tartottuk fent, amíg az egyes állatok testhőmérséklete 30-31 °C-ra nem csökkent. Ekkor az állatnak visszaadtuk a zsírdús táplálékot. Tehát az éhezés időtartamát minden állat esetén egyénileg lehetett meghatározni. Nem volt célunk az állatok túlélésének vizsgálata ebben a kísérletben sem, vagyis egyetlen állat sem pusztult el az éhezés hatására. Az újratáplálás után minden állat külsőre egészségesnek tűnt, súlyuk gyorsan gyarapodott.

Az állatok testtömegének mérése analóg mérleggel történt, naponta azonos időpontban, az állatokat legkevésbé zavarva. A kísérletek előtt az állatokat a méréshez előzetesen hozzászoktattuk.

3.5. Ozmotikus minipumpa beültetése

A rádiotelemetriás transzmitter ip implantációja után legalább egy héttel került beültetésre az icv kanül (Brain-infusion kit, ALZET) az egerek jobb oldali laterális agykamrájába, sztereotaxiás rendszer segítségével (Narishige, Japán). Az icv kanült a koponyacsonthoz fogorvosi cementtel és kis csavarokkal rögzítettük. A kanül meghosszabbításához csatlakoztatott ALZET (1003D vagy 2001D modell) ozmotikus minipumpát a nyak bőre alá ültettük be, ami 1,0 µl/óra sebességgel infundálta az adott anyagot. Ezek a pumpák - űrtartalomtól függően - három, illetve hét napon keresztül folyamatosan adták le az előzetesen betöltött gyógyszeres oldatot, illetve folyadékot. Az ozmotikus minipumpa hasüregbe való beültetése az oldat ip infúzióját biztosította.

3.6. A farmakológiai módszereknél alkalmazott anyagok

Az alkalmazott anyagokat fiziológiás sóoldatban, mindig a műtét reggelén, frissen oldottuk fel. A használatig -20 °C-on tároltuk őket.

CNTF (Sigma-Aldrich): 720 ng/óra hét napos icv infúzióban adva;

Guanethidine (Sigma-Aldrich): 10 mg/kg/nap napi ip injekciókban alkalmazva;

Kontroll sóoldat: 0,9 százalékos NaCl oldat;

Mephenesin (Sigma-Aldrich): 42 mg/kg/nap három napon át ip infúzióban;

Naloxone (Sigma- Aldrich): 20mg/kg/nap három napos sc infúzióban alkalmazva

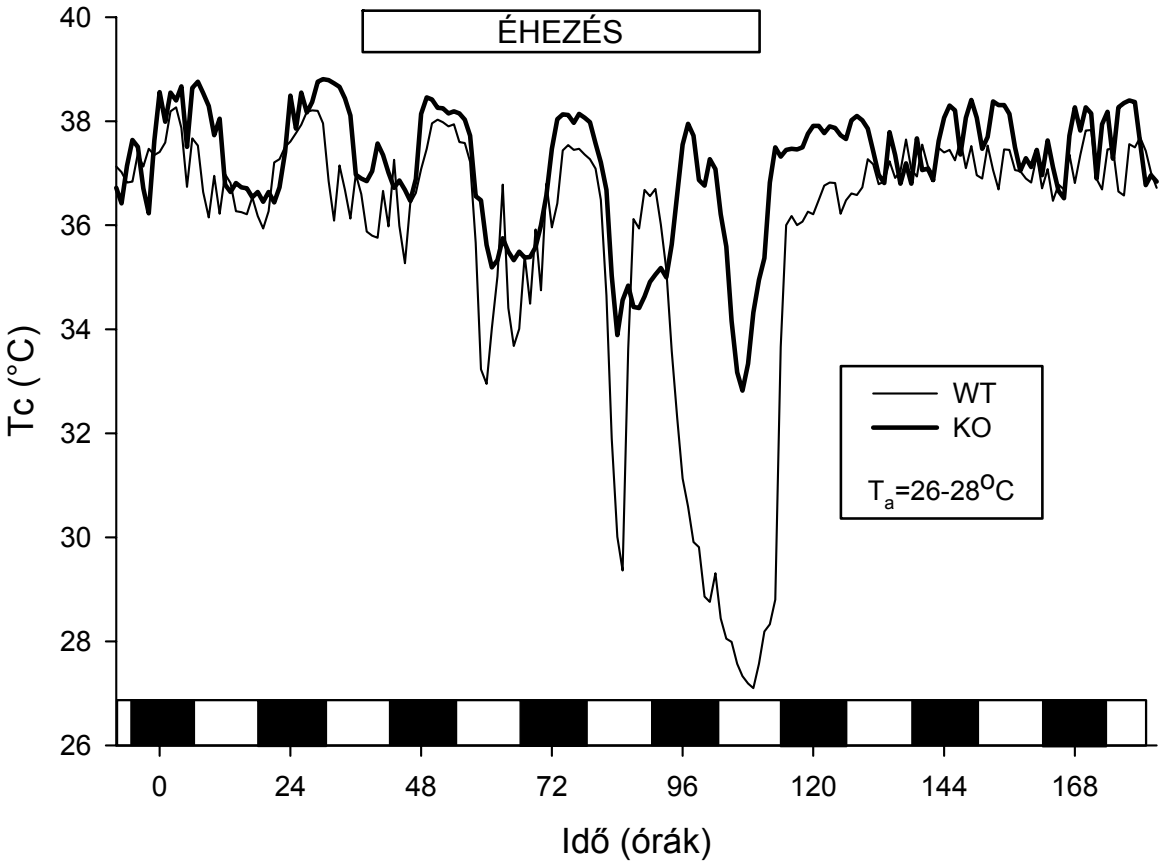
3.7. Statisztikai próbák

Vizsgálataink során megfelelő kontroll csoportokat alkalmaztunk (vivőanyaggal /fiziológiás sóoldattal kezelt/standard rágcsálótápon tartott/vad típusú állatok). A statisztikai értékelés során az adatok átlagolása az ábrákon feltüntetett módon történt. Az adott mintáktól függően két-mintás t-próbát, egy szempontos ANOVA tesztet, illetve repeated-measures ANOVA tesztet használtunk a statisztikai analízishez. A különbségeket $p<0,05$ esetén fogadtuk el statisztikailag szignifikánsnak. Az eredményeket bemutató ábrákon és a szövegben mindenhol az átlagot ± az átlag standard hibáját tüntettük fel (kivéve az egyedi ábrákat).

4. EREDMÉNYEK

4.1. Éhezési heterotermia TRPV1-KO és vad típusú egerekben

Általánosságban elmondható, hogy mindkét egércsoportban a maghőmérsékleteket tekintve, két, illetve háromnapos teljes éhezés esetén, a nappali minimum-értékek progresszív csökkenése volt jellemző, míg az éjszakai maximum értékek az éhezés előtti szinteknek feleltek meg. A maghőmérsékletek típusos változásait a 2. ábra mutatja háromnapos teljes éhezésnek kitett állatok esetén. Újratáplálás során az egerek maghőmérséklete azonnal emelkedni kezdett és két órán belül normalizálódott.



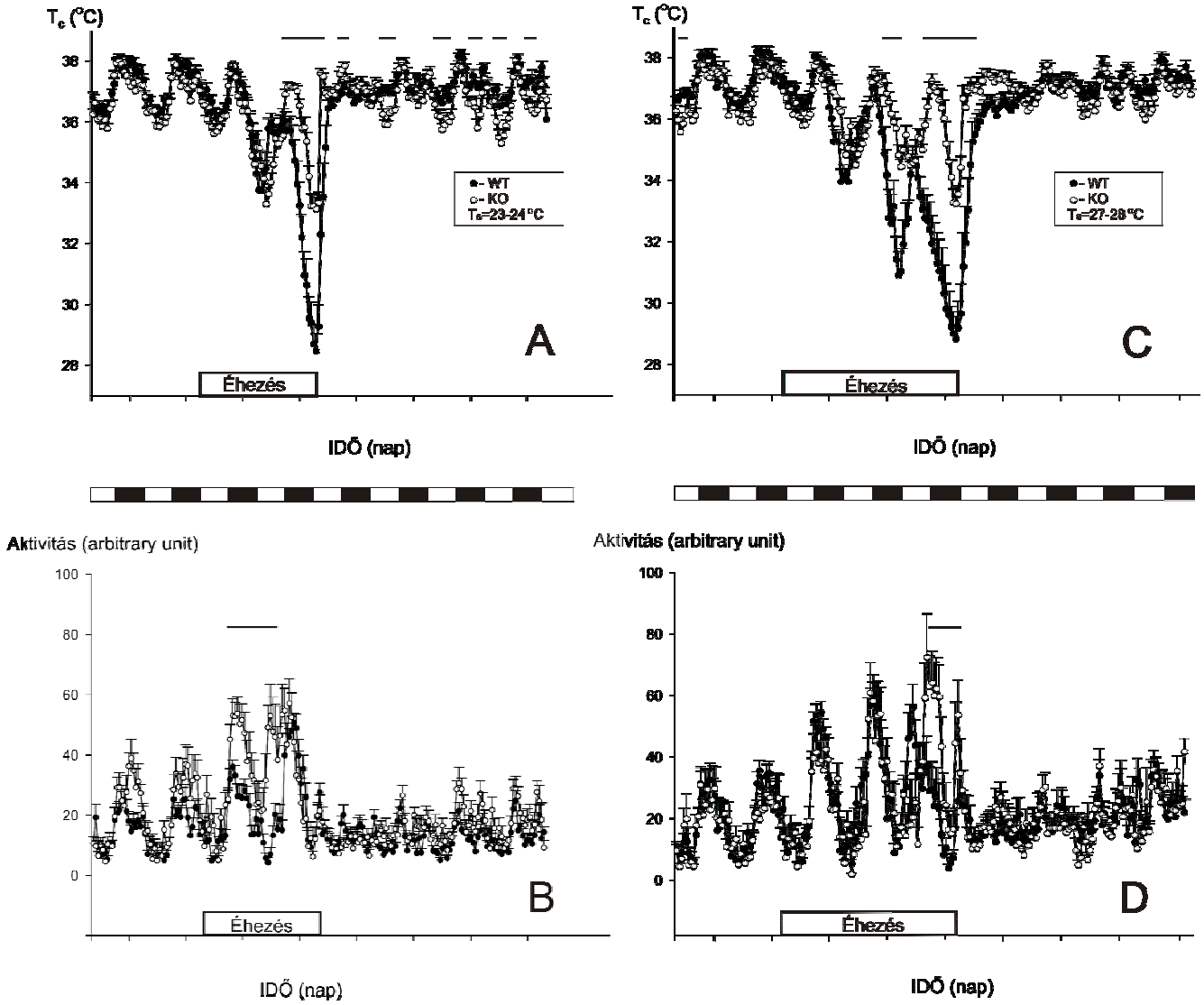
2. ábra: Maghőmérséklet változása vad típusú (WT, vékony vonal) és TRPV1-KO (KO, vastag vonal) egérben háromnapos éhezés előtt, alatt és után. Egyedi kísérlet. A környezeti hőmérséklet (Ta) 26-28 °C. Egy órás átlagolás. A nappali/éjszakai periódusokat fekete-fehér téglalapok jelzik.

A kétnapos éhezés során - összehasonlítva a vad típusú és a TRPV1-KO egerek válaszait (3. ábra A és B panel) - láthatjuk, hogy bár az éhezés első napján nem volt szignifikáns különbség a két csoport maghőmérséklete között, a vad típusú egerek nappali hipotermiája az éhezés teljes második napján keresztül sokkal kifejezettebb volt. A TRPV1-KO egerekben a lokomotoros aktivitás szignifikánsan magasabbnak adódott.

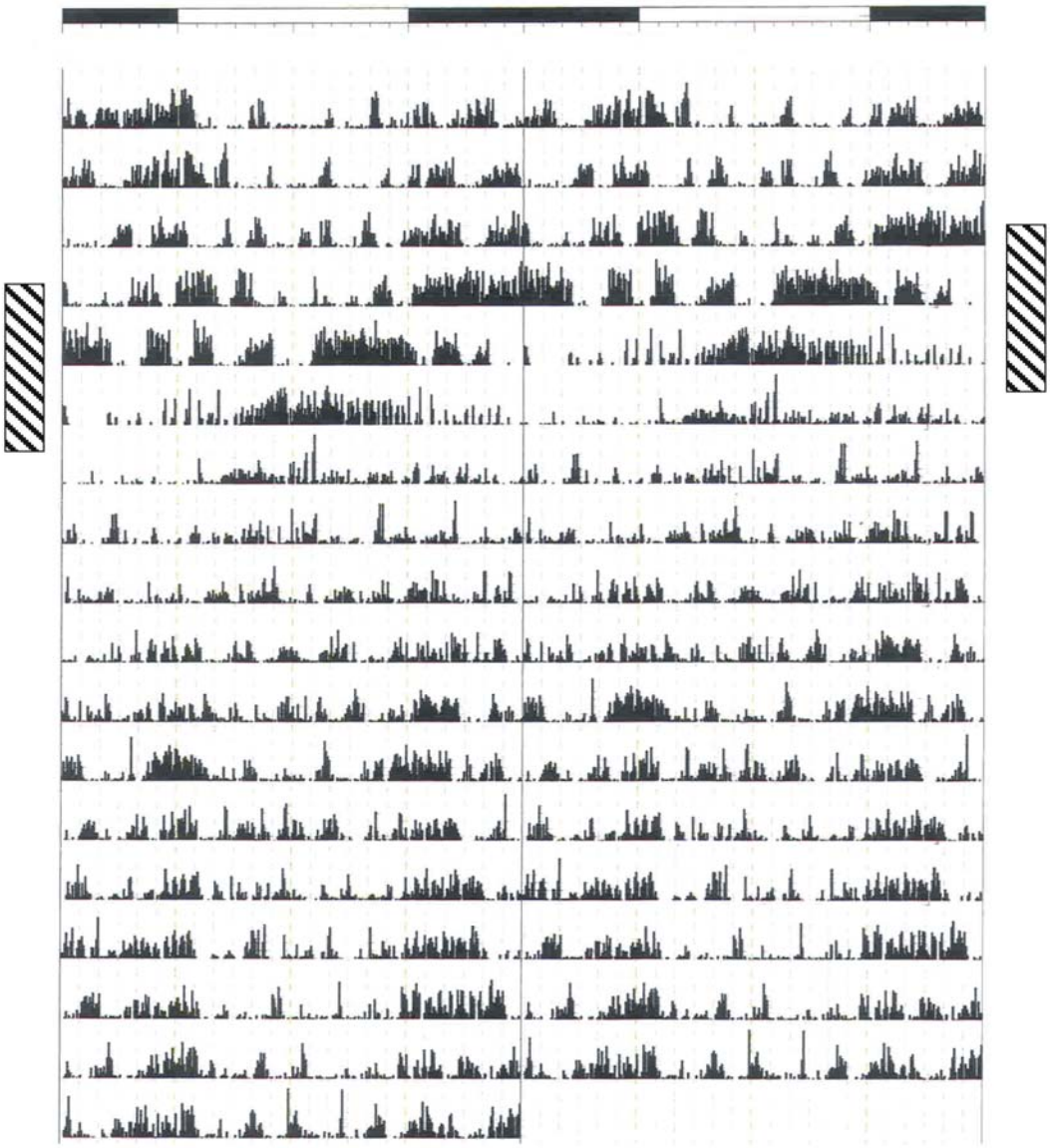
Az éhezés három napra való hosszabbítását (3. ábra C és D panel) a környezeti hőmérséklet magasabban tartása tette lehetővé, így a nappal megfigyelhető hipotermia tovább fokozódott, ám a különbség a két csoport között ugyanúgy megfigyelhető volt. A TRPV1-KO egerekben az éjszakai aktivitás a három napon keresztül progresszíven fokozódott, míg a vad típusú egerek esetén az éhezés harmadik éjszakája alatt már nem emelkedett tovább.

Egy másik érdekes jelenségre lehetünk figyelmesek az ábrák elemzése során. A lokomotoros aktivitás általában a hőmérséklettel párhuzamosan változott mind az éjszakai, mind a nappali értékek tekintetében is. A TRPV1-KO állatokban az éjszakai maghőmérséklet és az aktivitás emelkedő fázisa időben egybeesett, röviddel a sötét periódus kezdete előtt. Vad típusú egerekben azonban az éjszakai maghőmérséklet és aktivitás-emelkedés időben jóval előrébb tolódott, a normálisan 23-25 órás napi ciklus 17 órásra rövidült az éhezés harmadik napjára. Ezt az időbeli eltolódást mutatja a 4. ábra egy egyedi kísérletben, ahol egy vad típusú egér aktivitását követhetjük nyomon az éhezés előtt, alatt és az újratáplálás első napjai során.

Az újratáplálás teljesen megváltoztatta a maghőmérséklet és az aktivitás párhuzamos viselkedését, ami az éhezés előtt és közben is megfigyelhető volt. A táplálék visszaadását követően rögtön elkezdett nőni a maghőmérséklet, és az utolsó éhezés reggelén látható maghőmérsékleti értékektől függetlenül elérte a normális értéket. Ahogyan az a 3. ábra B és D panelén látszik az egerek nem fokozták aktivitásukat a rendkívül gyorsan emelkedő maghőmérséklettel párhuzamosan. Ez a szétválás egy különleges jelenség, amit csak nagyon ritkán észlelünk. Érdemes megemlíteni, hogy a maghőmérséklet emelkedése igen gyorsan, mintegy 30-40 perc alatt zajlott le mindkét csoport esetén.



3. ábra: A maghőmérséklet (Tc, A és C panel) és a lokomotoros aktivitás (Aktivitás, B és D panel) változása kétnapos (A és B, n=14 mindkét csoportban) és háromnapos (C és D, n=13 mindkét csoportban) éheztetés során TRPV1-KO (KO, fehér karika) és vad típusú (WT, fekete karika) egerekben. A nappali/éjszakai periódusokat fekete-fehér téglalapok jelzik. A TRPV1-KO és vad típusú egerek közötti szignifikáns különbséget a görbe feletti vízszintes vonalak jelölik. Egy órás átlagolás.

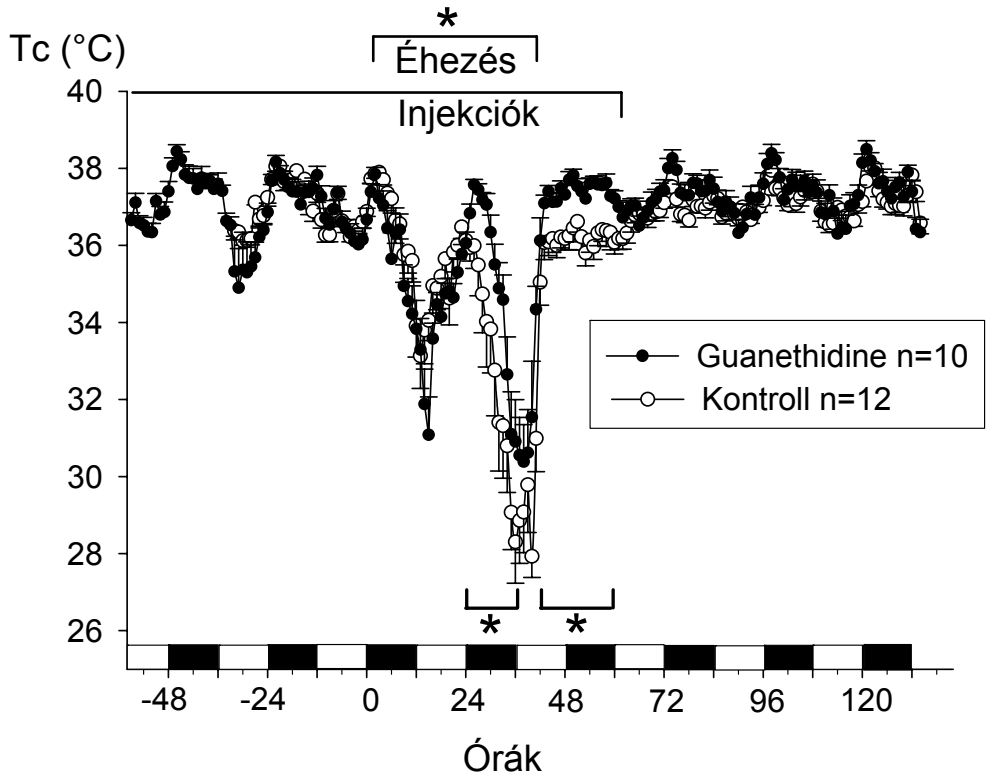


4. ábra: A lokomotoros aktivitás növekedésének időbeli eltolódása egy egyedi kísérletben háromnapos éhezési periódus előtt, közben és után egy vad típusú egérben. Minden sor egymást követő két nap aktivitását mutatja, egy napos átfedéssel soronként. Az éhezés időtartamát a szélen csíkos sáv jelzi. A nappali/éjszakai periódusokat fekete-fehér téglalapok jelzik. Actiview regisztrátum.

4.2. Éhezés alatt kialakuló heterotermia és újratáplálás során létrejövő normotermia egérben

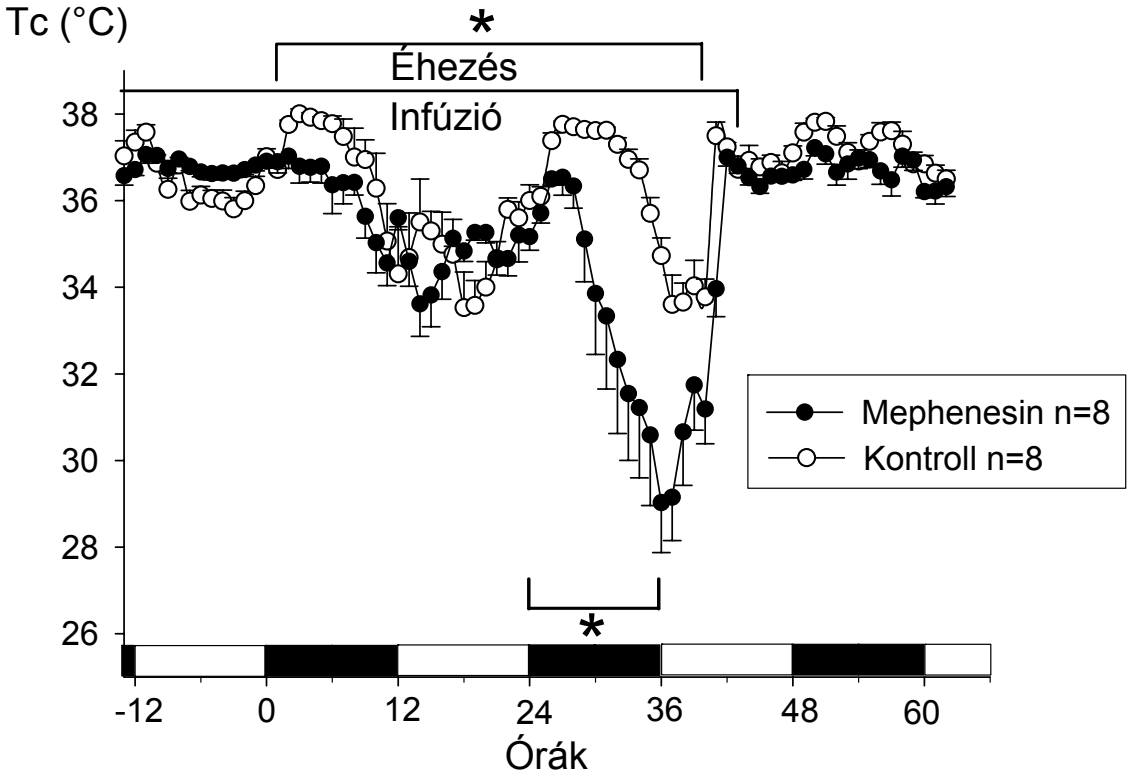
A kontroll egerekben a teljes éhezés progresszív nappali hipotermiát és éjszakai normotermiát okozott, amit az éhezés második reggelén, újratápláláskor megfigyelhető gyors maghőmérsékleti normalizálódás követett. Guanethidine, mephenesin vagy naloxone kezelés alatt a maghőmérsékleti minta alapvetően változatlan maradt, mennyiségi változások azonban megfigyelhetők voltak.

Guanethidine kezelés alatt a maghőmérséklet az éhezés második éjszakáján és az újratáplálást követő 21 órás periódusban magasabb volt, mint a kontroll állatokban (5. ábra). Az újratáplláskor megfigyelhető gyors maghőmérséklet-emelkedés dinamikáját a kezelés nem változtatta meg.



5. ábra: 40 órás éhezés és újratáplálás hatása a maghőmérsékletre (Tc) napi IP 0,9%-os NaCl injekcióval kezelt (kontroll állatok, fehér karika) és IP guanethidinnel kezelt (fekete karika) egérben. A nappali/éjszakai periódusokat fekete-fehér téglalapok jelzik. A csillagok szignifikáns különbségeket jelölnek a teljes éhezési periódus alatt [$F(1,20) = 15.709$; $p = 0.001$], az éhezés második éjszakája alatt [$F(1,20) = 10.605$; $p = 0.004$] és az újratáplálás első 21 órájában [$F(1,20) = 12.574$; $p = 0.002$]. Egy órás átlagolás.

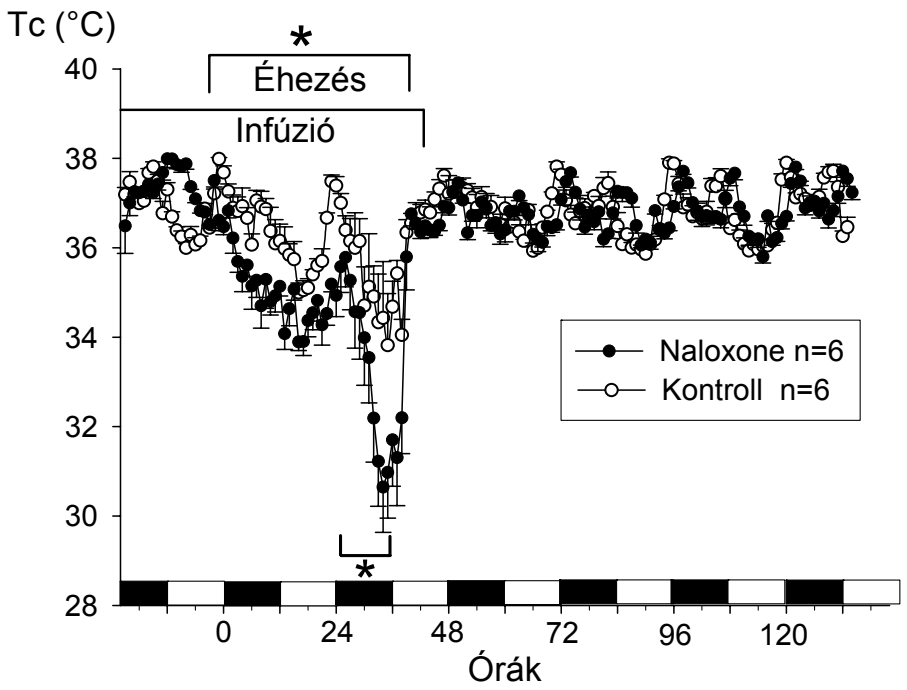
Ahogy az a 6. ábrán látható, a mephenesin infúziója csökkentette a maghőmérsékletet a kontroll körülményekhez képest. Az éhezés második éjszakája alatt a maghőmérséklet progresszív csökkenését okozta, és ez a csökkenés egészen az újratáplálás kezdetéig megfigyelhető volt. Az újratáplálási maghőmérséklet-emelkedés mindkét állatcsoportban hasonlóan zajlott.



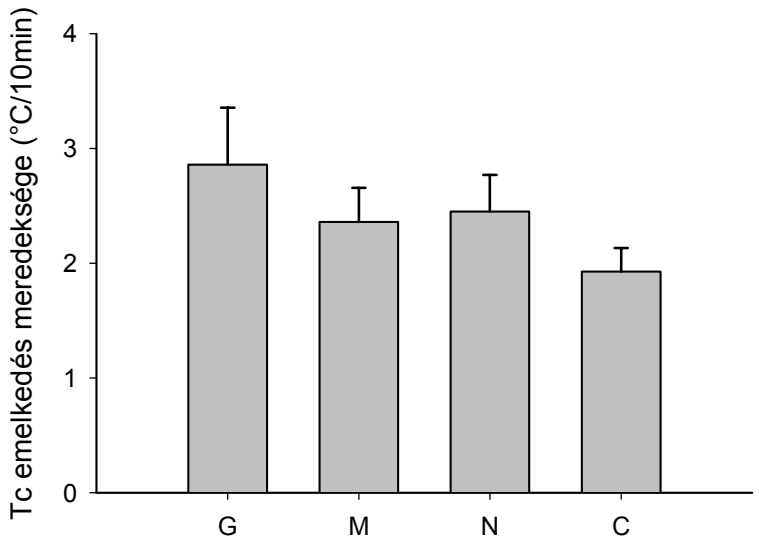
6. ábra: 40 órás éhezés és újratáplálás hatása a maghőmérsékletre (Tc) kontroll állatokban (fehér karika) és mephenesin IP infúzióval kezelt (fekete karika) egerekben. A nappali/éjszakai periódusokat fekete-fehér téglalapok jelzik. A csillagok szignifikáns különbségeket jelölnek a teljes éhezési periódus alatt [$F(1,14) = 21.259$; $p < 0.001$], az éhezés második éjszakája alatt [$F(1,14) = 13.451$; $p=0.003$]. Egy órás átlagolás.

Naloxone hatására a maghőmérséklet a teljes éhezés alatt alacsonyabb volt, mint a kontroll állatokban (7. ábra).

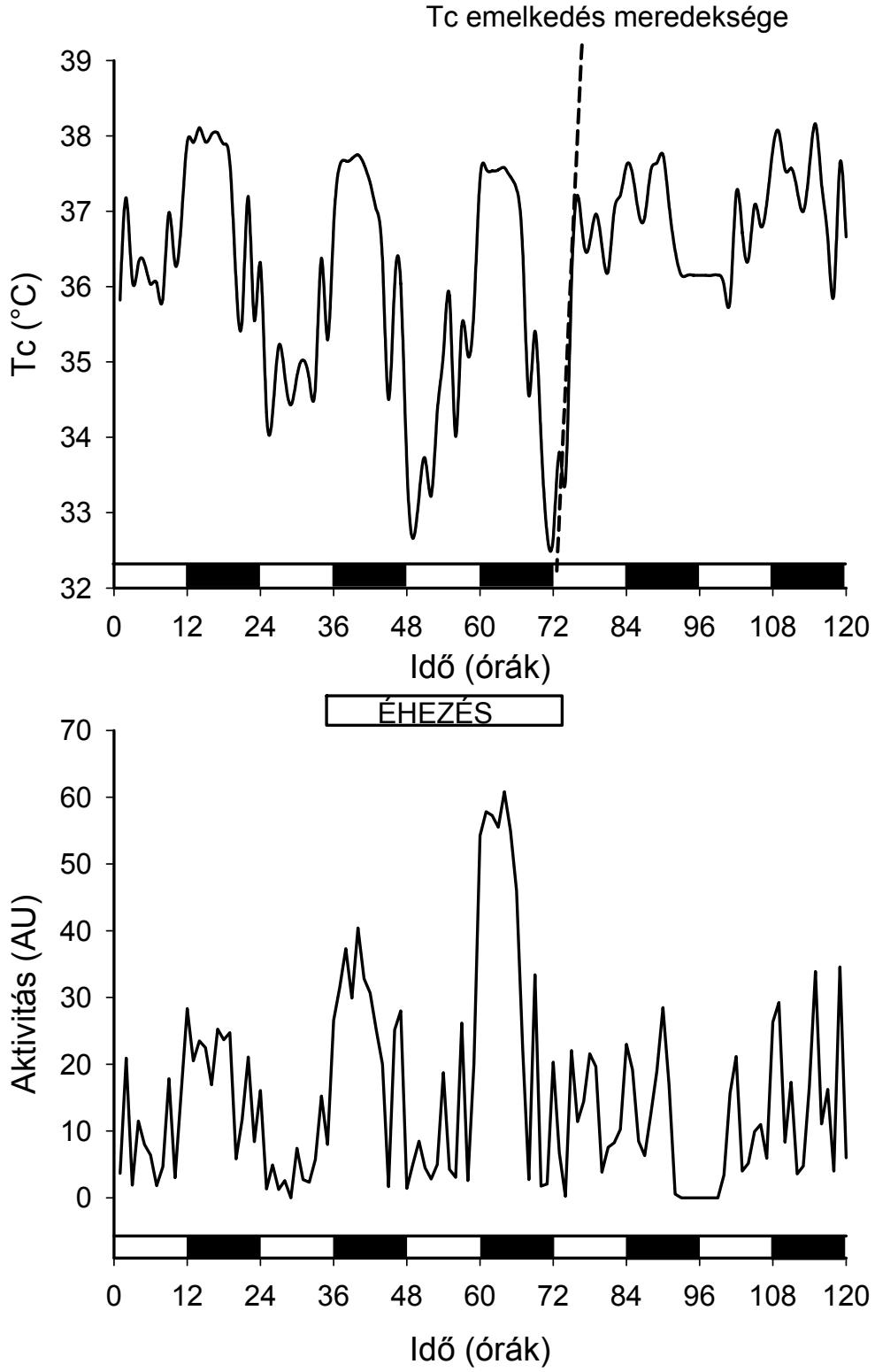
Az újratápláláskor megfigyelhető maghőmérséklet-emelkedés meredekségét az alkalmazott anyagok egyike sem változtatta meg. Ez a hőmérséklet-emelkedés az aktivitás fokozódása nélkül jött létre ebben az esetben, amit az alkalmazott anyagok egyike sem tudott befolyásolni (8. és 9. ábra).



7. ábra: 40 órás éhezés és újratáplálás hatása a maghőmérsékletre (Tc) kontroll állatokban (fehér karika) és naloxone szubkután infúzióval kezelt (fekete karika) egerekben. A nappali/éjszakai periódusokat fekete-fehér téglalapok jelzik. A csillagok szignifikáns különbségeket jelölnek a teljes éhezési periódus alatt [F(1,10) = 18.053; p = 0.002], az éhezés második éjszakája alatt [F(1,10) = 19.934; p=0.001]. Egy órás átlagolás.



8. ábra: Újratáplálás hatása a maghőmérséklet (Tc) emelkedésének meredekségére guanethidinnel kezelt (G, n=10), mephenesinnel kezelt (M, n=8), naloxonnal kezelt (N, n=6) valamint kontroll (C, n=7) állatokon. A maghőmérséklet-emelkedés meredekségét (lásd 9. ábra) az alkalmazott anyagok nem befolyásolták.

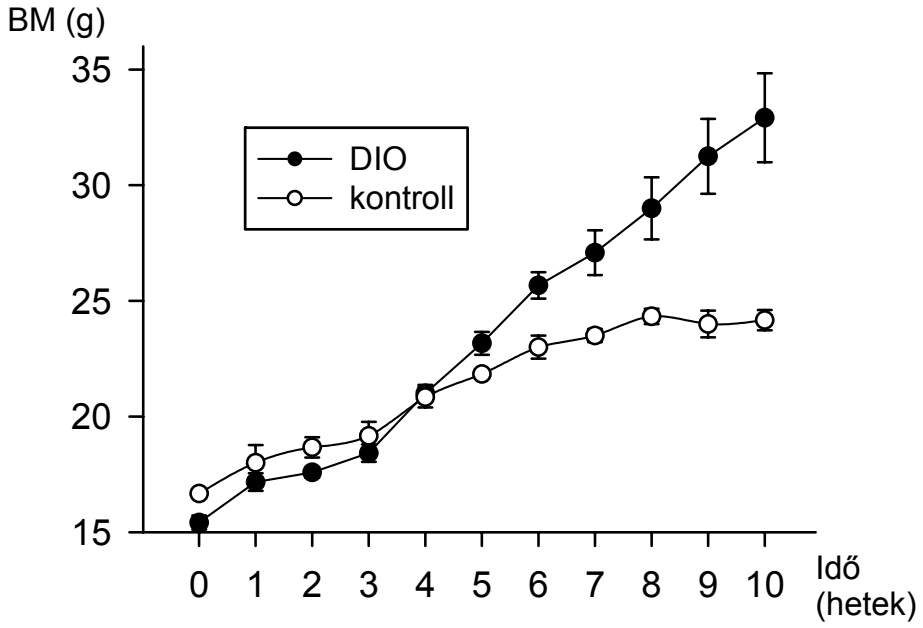


9. ábra: Egy kontroll egér maghőmérséklete (Tc) és lokomotoros aktivitása (arbitrary unit, AU) 40 órás teljes éhezési időszak előtt, alatt és azt követően. Egy órás átlagolás. A maghőmérsékleti emelkedés meredekségét a szaggatott vonal ábrázolja.

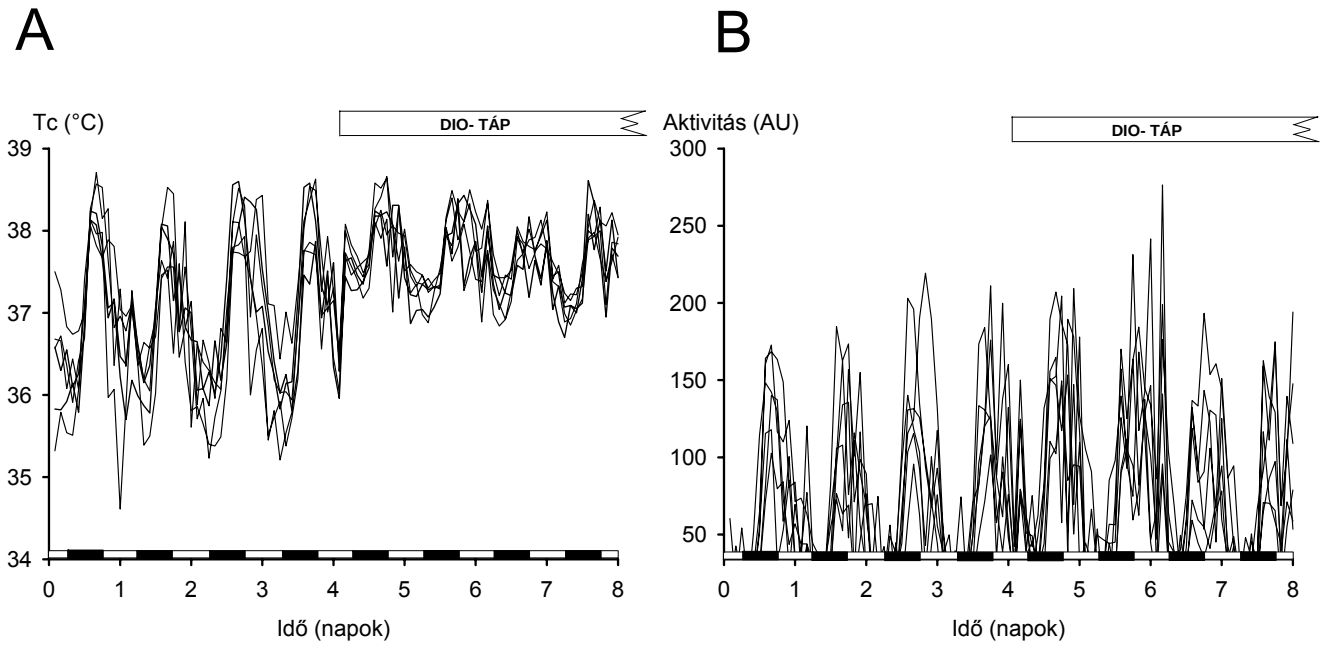
4.3. Többhetes teljes éhezés egérben zsírdús táppal kiváltott elhízást követően

Kísérleteinkben zsírdús táppal kiváltott elhízást követően teljes energiamegvonás történt szabad vízfelvétel mellett a nappali hipotermia kialakulásáig. A testsúly meghatározása mellett biotelemetriás módszerrel követtük a maghőmérsékletet és a lokomotor aktivitást.

Néhány hetes, standard rágcsálótáppal való táplálást követően az egereket DIO táppal (az energia 60%-át zsírként tartalmazó TestDiet) etettük. Két hónap alatt az egerekben mintegy 50 %-os testsúlynövekedés jött létre (10. ábra). A zsírdús tápon lévő állatok testtömeg-növekedése már az ötödik héttől kezdődően szignifikánsan nagyobb volt [F(1,7)=9,339; p=0,018]. A zsírdús táp alkalmazásának első napjától kezdve jelentősen csökkent a napi maghőmérséklet hullámzásának amplitúdója (11. ábra); míg a kontoll állatokban ez az érték 2,5-3,0 °C, addig a zsírdús táp bevezetése után 1,2-1,5°C közé csökkent. Az ábrán az is látható, hogy a napi átlagos maghőmérséklet emelkedett, míg a napi átlagos lokomotoros aktivitás nem változott.

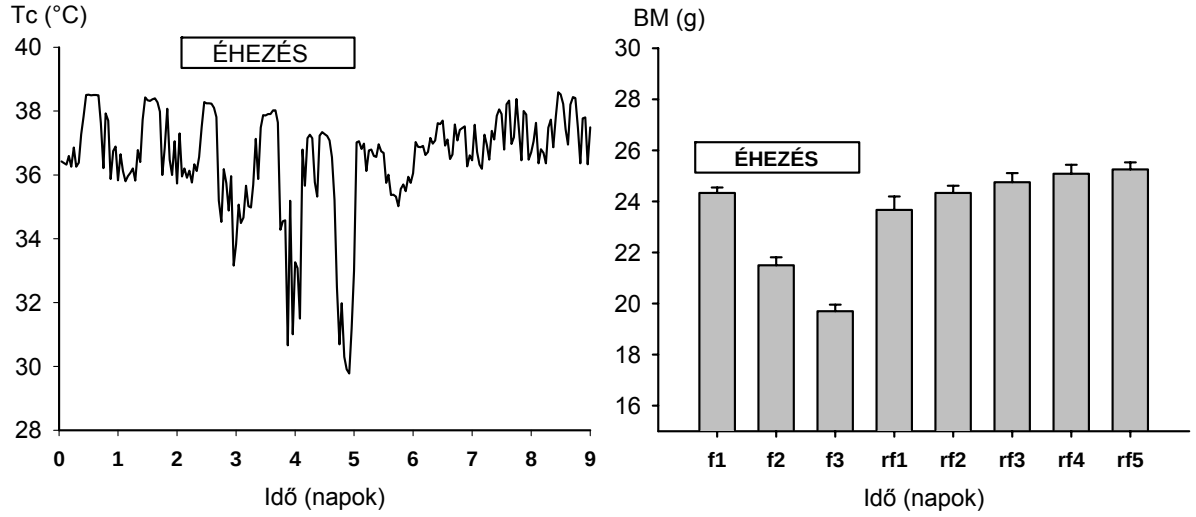


10. ábra: A testtömeg (BM) növekedése kontroll (fehér karika) és zsírdús táppal etetett (fekete karika) egerekben (n=12).

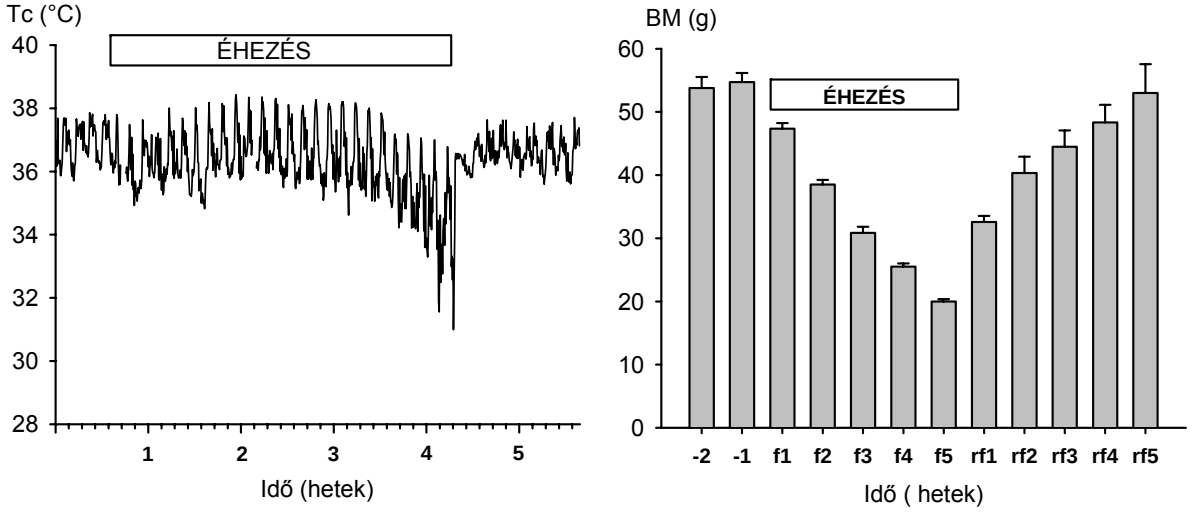


11. ábra: A maghőmérséklet (Tc, A panel) és a lokomotoros aktivitás (mértékegysége arbitrary unit, AU, B panel) változásai zsírdús táp (DIO-táp) bevezetése előtt/után 6 egérkisérletben. A nappali/éjszakai periódusokat fekete-fehér téglalapok jelzik. Két órás átlagolás.

A 2-3 hónapos, normál tápon tartott egerek testtömege a kísérletek kezdetén 24-26 g volt. A magas zsírtartalmú diétán tartott állatok néhány hónapon belül 40-60 g-ra híztak. A 24-26 grammos testtömegről induló kontroll állatok testtömege 19-20 grammra csökkent a három napos teljes éhezés alatt. Az 50-55 gramm súllyal kezdett teljes éhezést az egerek átlagosan 30-35 napig tolerálták, miközben a testtömegükből átlagosan 64 százalékot vesztettek. A zsíros táppal való újratáplálás 5 hét alatt visszaállította a kísérlet kezdetekor meglévő testtömeget. (12. és 13. ábra). Az elhízott állatokban a testtömegcsökkenéssel párhuzamosan a nappali maghőmérsékletük sokáig nem csökkent, csökkenése csak az újratáplálás előtti héten volt megfigyelhető. Az éhezés önkényesen addig tartott, amíg az egyes állatok maghőmérséklete el nem érte a 30-31 °C-ot, tehát minden egyes állat esetén egyénileg változott az éhezés időtartama.

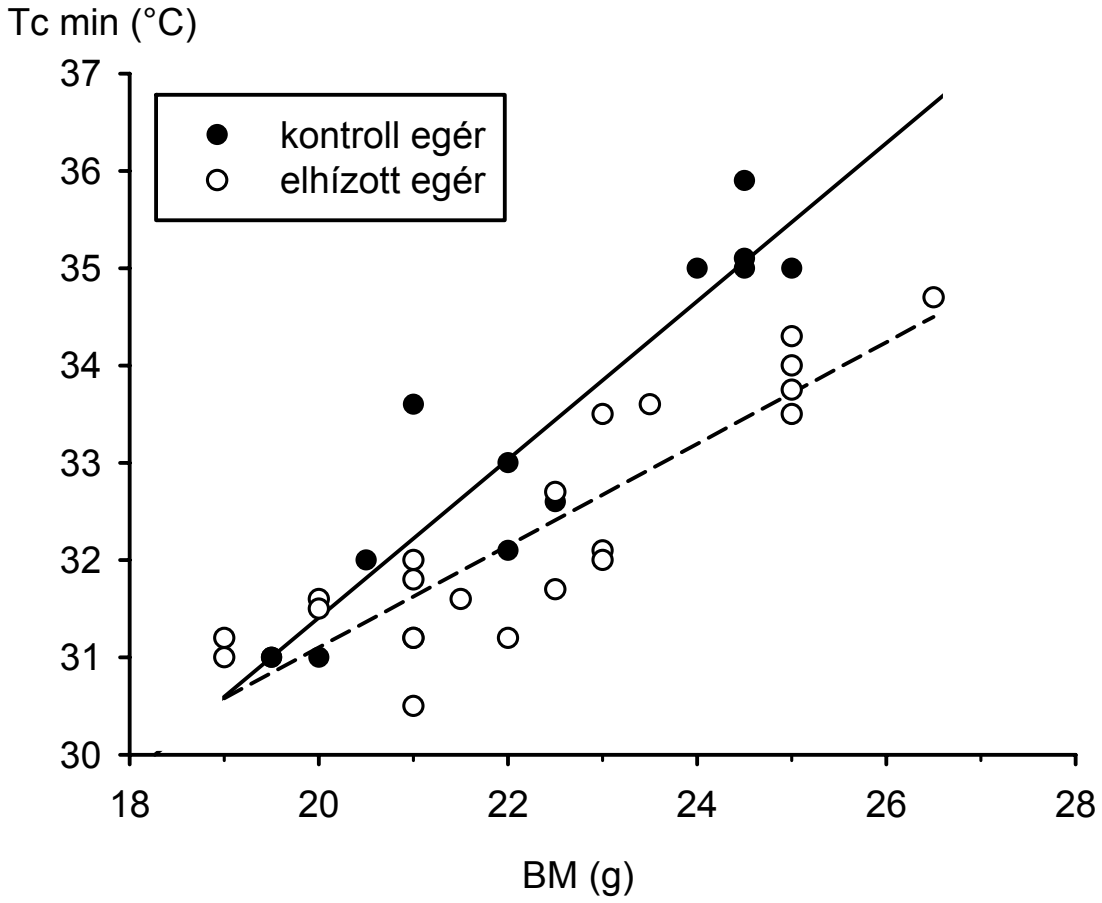


12. ábra: Bal oldalon a maghőmérséklet (Tc) változásai láthatók egy kontroll egérben három napos teljes éhezés előtt, közben és után, egy órás átlagolással. Jobb oldalon a napi testtömeg átlaga ± SEM (BM, n=8) látható az éhezés alatt (f1-3), majd az újratáplálás első öt napján (rf1-5). Az állatok egy nap alatt visszanyerték eredeti testtömegüket.



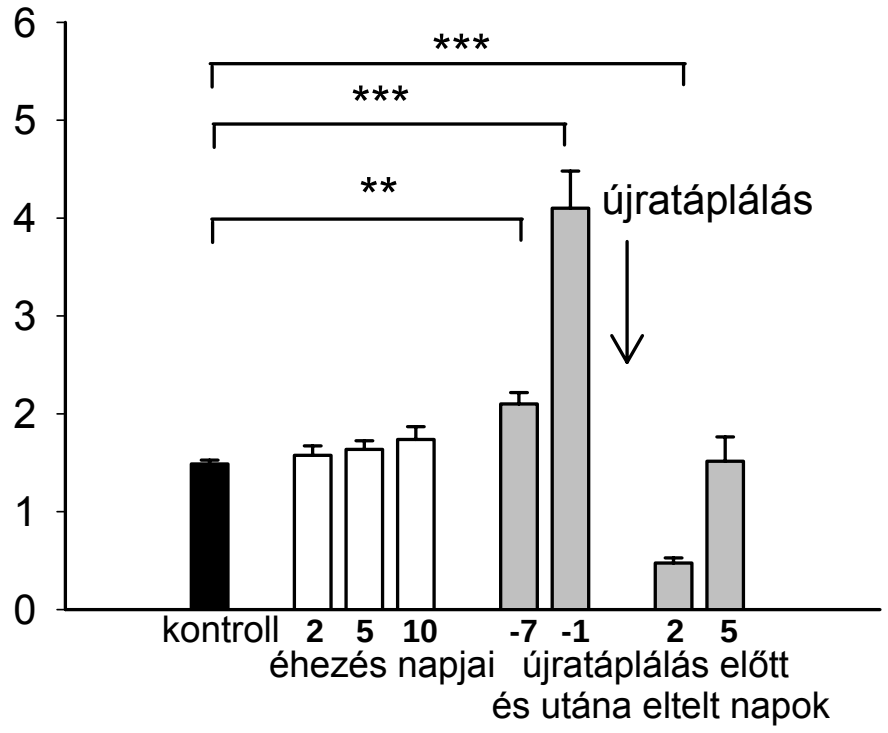
13. ábra: Bal oldalon a maghőmérséklet (Tc) változásai láthatók egy elhízott egérben 26 napos teljes éhezés előtt, közben és után, egy órás átlagolással. Jobb oldalon a napi testtömeg átlaga ± SEM (BM, n=8) látható az éhezés előtt (-2,-1), alatt (f1-5), majd az újratáplálás első öt hetén (rf1-5). Az állatok az éhezés ötödik hetére ugyanúgy ~20 g-ra fogytak, mint a normál tápon tartott kontroll állatok a három napos éhezés végére (12. ábra).

Az újraetetés előtt 27-19 g-os testtömegtartományt figyelembe véve, a nappali minimum hőmérsékletek a testtömeg függvényében szoros korrelációt adnak mind az elhízott, mind a kontroll csoportban (elhízott: r = 0,89 és kontroll: r = 0,94). A két regressziós egyenes ~19 g-os testtömegnél találkozik, ekkor a nappali minimum-hőmérséklet ~30,5 °C.



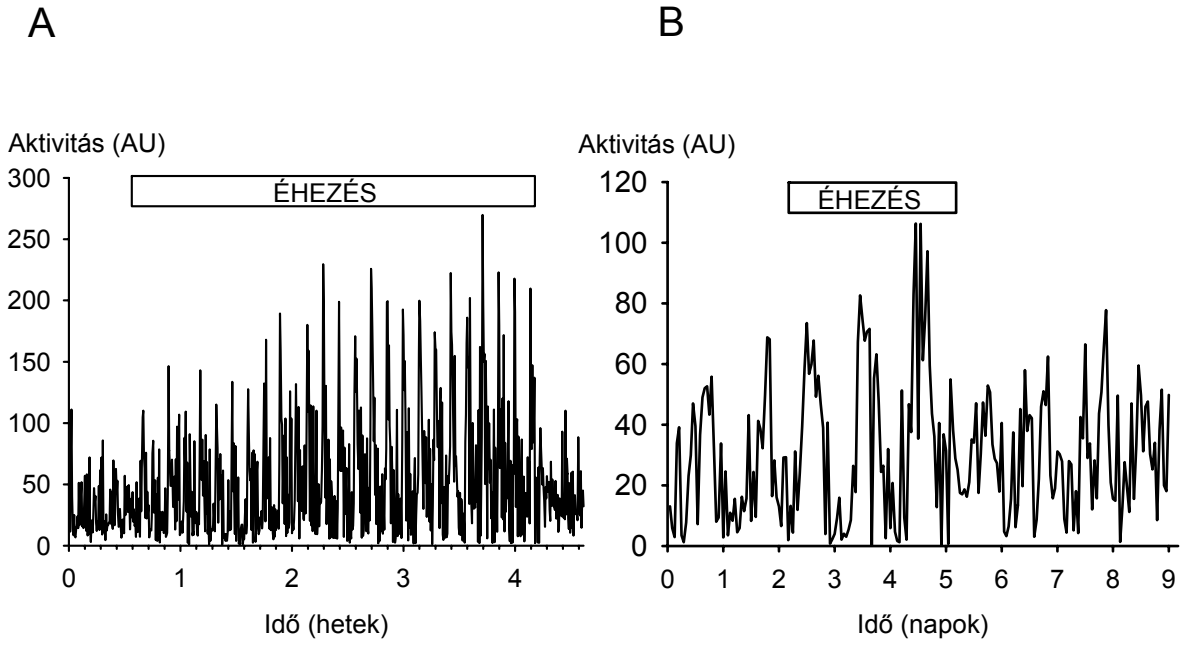
14. ábra: A nappali maghőmérsékletek minimuma (Tc min) a testtömeg (BM) függvényében elhízott és kontroll egérben az éhezés utolsó napjaiban (regressziós egyenesek: elhízott egerek: y = 0.52x + 20.65; r = 0.89, kontroll egerek: y = 0.81x – 15.14; r = 0.94).

Az újratáplálás előtt egy héttel szignifikáns lett a napi maghőmérséklet-hullámzás növekedése. Ez az érték az újratáplálás előtt egy nappal elérte a maximumot (4,1+0,4), újratáplálláskor szignifikánsan csökkent, (0,5+0,1) majd az ezt követő ötödik napon visszatért az eredeti értékre (1,5+0,1) (15. ábra).



15. ábra: Az elhízott állatok éhezés előtti (kontroll), az éhezés 2., 5., 10. napján, újratáplálás előtt 7 ill 1 nappal, és utána 2 ill 5 nappal megfigyelhető maghőmérséklet-hullámzás kitérései (maximum és minimum maghőmérséklet különbsége). N=8.

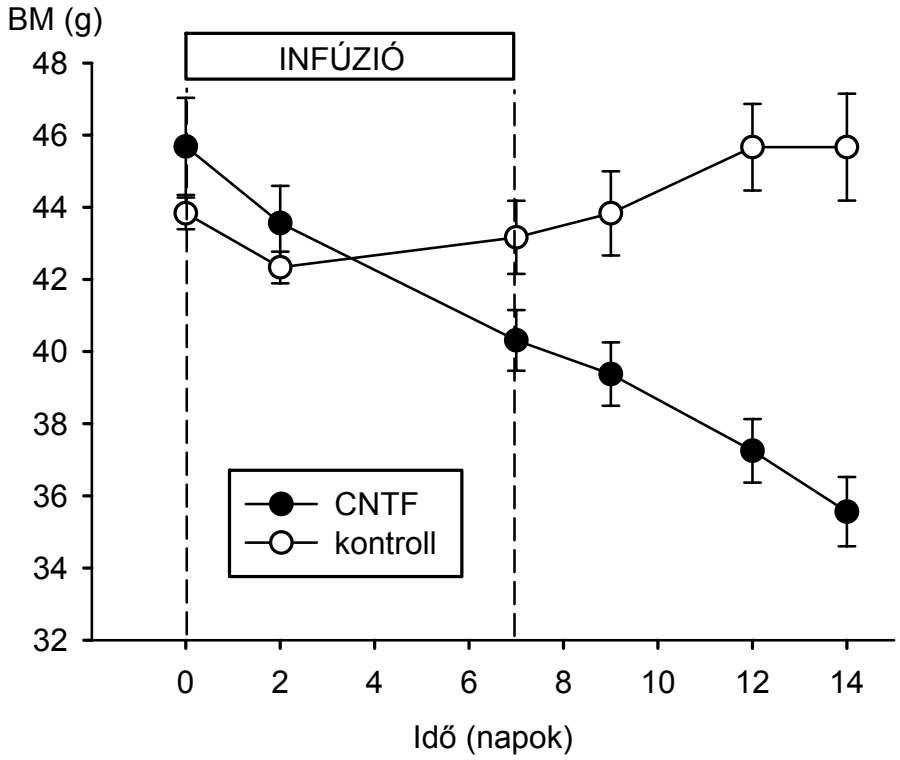
A 16. ábra az állatok lokomotoros aktivitására vonatkozó példákat mutatja be egy 27 napos éhezés és egy három napos éhezés esetén. Az aktivitásértékek progresszív növekedését láthatjuk.



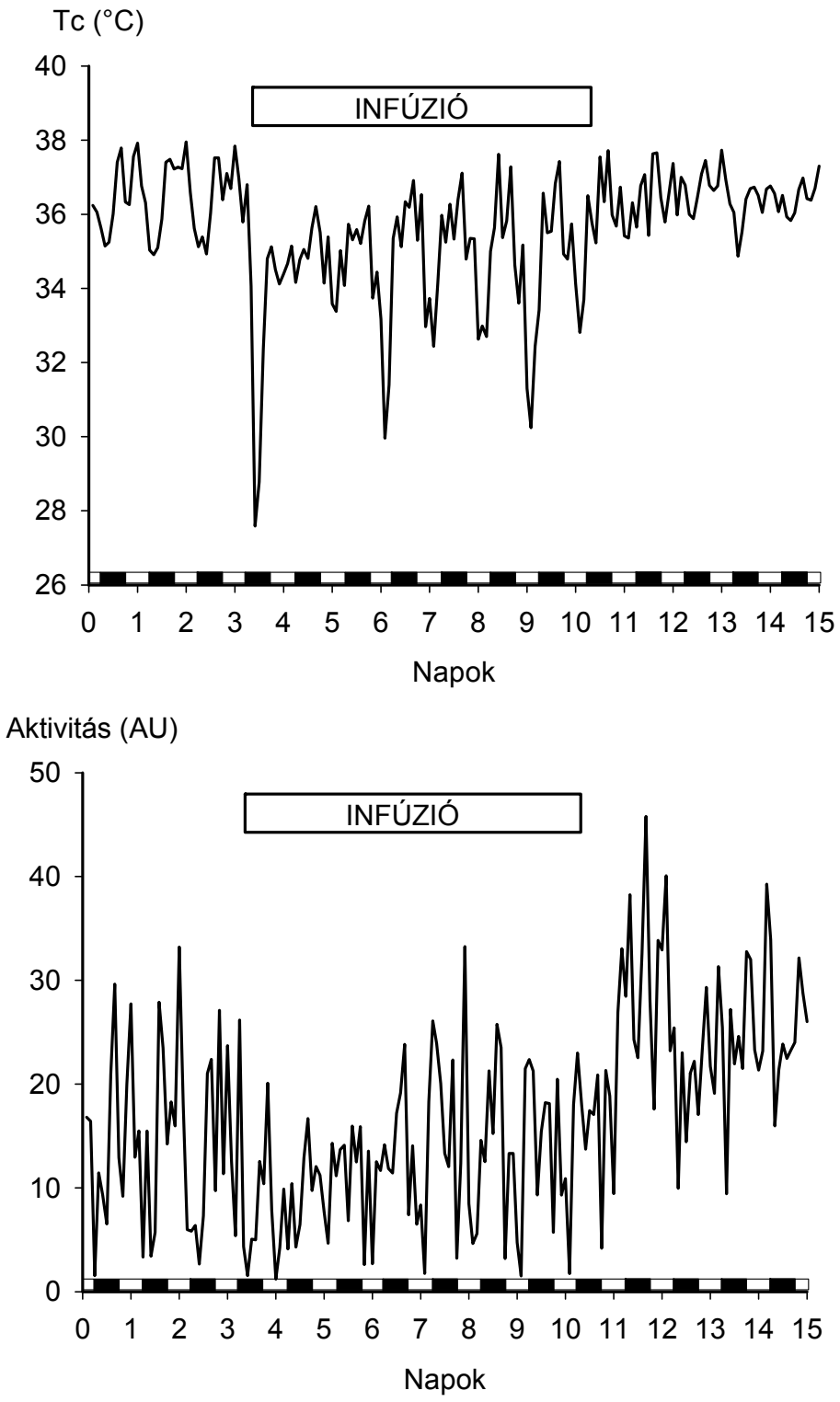
16. ábra: Elhízott (bal oldali ábra) és kontroll egér (jobb oldali ábra) általános lokomotoros aktivitása látható egy órás átlagolással. Az éhezés alatt mindkét esetben az aktivitásértékek fokozatos növekedése volt jellemző végig az éhezési periódus alatt. Az újratáplálás mindkét esetben gyors aktivitás-csökkenéshez vezetett.

4.4. Centrális CNTF infúzió hatása elhízott egerek maghőmérsékletére és lokomotoros aktivitására

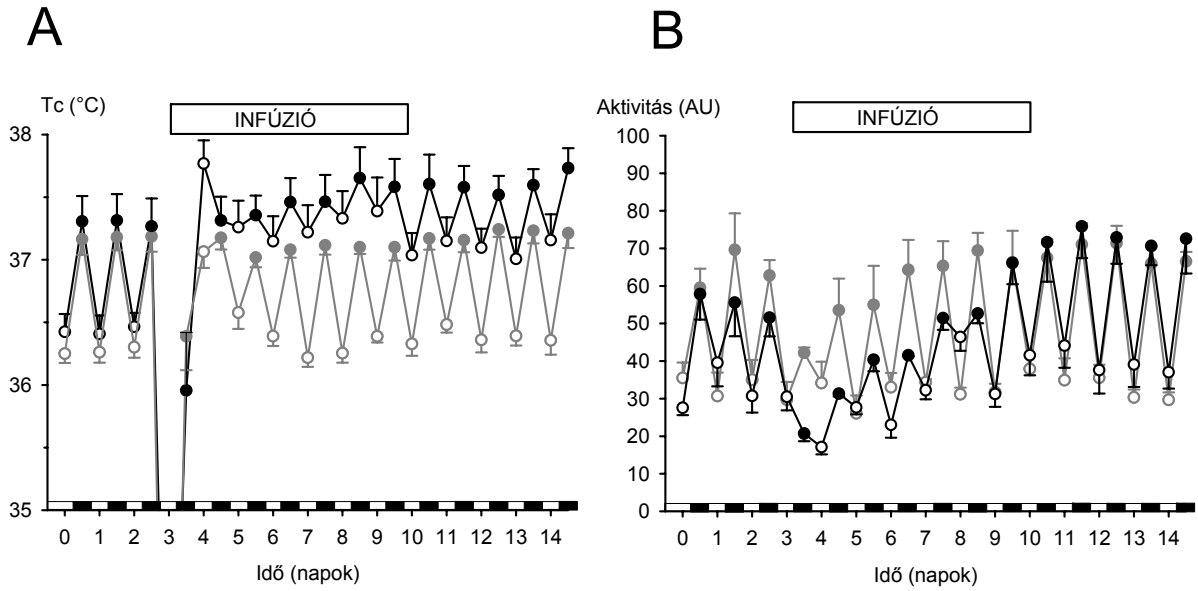
A kísérleteinkben zsírdús táppal elhízlalt egerek maghőmérsékletét és lokomotoros aktivitásását tartósan monitoroztuk egy héten keresztül centrálisan, agykamrába infundált CNTF infúzió előtt, közben és után. Az állatok testtömegét manuálisan mértük. A 17. ábrán látható a kontroll, illetve a CNTF infúzió alatt és után mért testtömeg-változás az elhízott egerekben. A testtömeg csökkenése fokozatos, kifejezett és tartós volt a kezelt csoportban, míg a fiziológiás sóoldat infúziója gyakorlatilag hatástalannak bizonyult. A műtét miatt átmeneti testtömeg-csökkenést találtunk a szokásos módon az első pár napban.



17. ábra: Elhízott egerek testtömegének (BM) változása látható kontroll (fehér karika) illetve hét napos CNTF infúzió (fekete karika) adása alatt és után (n=12). A CNTF infúzió hatására az állatok testtömege jelentősen csökkent, és ez a hatás tartósnak és szignifikánsnak bizonyult. $F(1,11)=6,284$; $p=0,029$.



18. ábra: Normál tápon tartott, kontroll egér maghőmérsékletének (Tc, felső ábra) és lokomotoros aktivitásának (alsó ábra) változása látható a hét napos CNTF infúzió adása alatt és után egy órás átlagolással. A nappali/éjszakai periódusokat fekete-fehér téglalapok jelzik.



19. ábra: Zsírdús táppal elhízlalt egerek maghőmérsékletének (Tc, A panel) és lokomotoros aktivitásának (B panel) változása látható a kontroll (szürke vonal) illetve a hét napos CNTF infúzió (fekete vonal) adása alatt és után (n=12). A nappali (inaktív fázis) 12 órás átlagosértékeket fehér karikák, az éjszakai (aktív fázis) értékeket fekete karikák jelzik. A nappali/éjszakai periódusokat fekete-fehér téglalapok jelzik.

A 18. ábra egy kontroll, nem elhízott egér CNTF infúzióját mutatja egyedi kísérletben. A nappali maghőmérsékletek növekedése és az éjszakai aktivitás értékek csökkenése figyelhető meg az infúzió ideje alatt.

A 19. ábrán látható módon a CNTF infúzió adása után azonnal, és az injekció teljes ideje alatt megnövelte az állatok maghőmérsékletét a kontrollhoz képest. A CNTF infúzió ideje alatt a maghőmérsékleti hullámzás praktikusan elmosódott, és csak az infúzió után tért vissza. A lokomotoros aktivitás a CNTF infúzió kezdetétől csökkent, és az infúzió végére kezdett újra emelkedni. Tehát a maghőmérsékletnél látotthoz hasonlóan az aktivitásértékek megszokott éjszakai/nappali hullámzása is megszűnt, de később visszatért. Sem a maghőmérsékleti, sem az aktivitásértékek nem változtak a kontroll fiziológiás sóoldat hatására. ANOVA repeated measures vizsgálattal a nappali minimumértékek emelkedése [Tc [$F(1,7)=25.884$; $p=0.001$] és az éjszakai aktivitásértékek csökkenése [$F(1,10)=299.033$; $p<0.001$] volt szignifikáns.

5. AZ EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE

5.1. Éhezési heterotermia TRPV1-KO és vad típusú egerekben

Chossat volt a XIX. században az, aki először leírta azt a jelenséget, hogy éhezés alatt a testhőmérséklet csökken (Chossat, 1843). Nokturnális fajokban a testtömegtől és a kalória-megszorítás mértékétől függően nappal a maghőmérséklet fokozatosan csökken, míg az éjszakai maghőmérséklet nagyjából a normális tartományban marad (Overton és Williams, 2004; Gelegen et al, 2006; Abe et al, 2007). Adataink megerősítik ezeket az alap-megfigyeléseket és kiegészítik őket olyan egerek vizsgálatával, amelyeknek hiányzik a működő TRPV1 receptora. Ezen kívül adatokat nyertünk a lokomotoros aktivitásról is, ami a hőtermelés lehetséges forrása éhezés alatt, így lehetővé teszi az éjszakai periódus alatt a normotermia megtartását.

A maghőmérséklet és a fizikai aktivitás változásainak megfigyeléséhez először két napos teljes éhezésnek tettük ki az állatokat hűvös környezeti hőmérsékleten (23-24 °C), de a kísérlet kivitelezése után hasznosnak tűnt az éhezés három napra való kiterjesztése, hogy a változások dinamikája még jobban megfigyelhető legyen. Ahhoz, hogy ezt kivitelezhessük, magasabb környezeti hőmérsékletre volt szükség (27-28°C). Az éhezési periódus végén mért testtömegcsökkenés mértéke, ugyanígy a maghőmérsékleti értékek minimuma hasonló volt mindkét kísérletben, így a fő különbség csak az éhezés hossza volt. A 27-28°C-os környezeti hőmérséklet alacsonyabb, mint az egerek termoneutrális környezete, de a célunk az volt, hogy a háromnapos éhezés alatti testtömegcsökkenés és a maghőmérsékletek hasonlók legyenek a kétnapos éhezés alatt megfigyelt értékekhez.

Mindkét állatcsoportban az éhezés alatt éjszaka a maghőmérséklet-emelkedést nagyobb aktivitás-növekedés kísérte, mint éhezés nélkül, és a TRPV1-KO állatokban ez az aktivitás-növekedés fokozatosan még tovább nőtt az éhezés második és a harmadik éjszakája alatt. Ez a megfigyelés indirekt bizonyítékot szolgáltat a fizikai aktivitás hőtermelő szerepére (Gordon 1993). Bizonyítékok vannak arra, hogy a nem-didergéses hőtermelés, ami főleg a barna zsírszövetre lokalizálódik, jelen lehet a vázizomzatban is (emelkedő UCP-3 aktivitás éhezés alatt), és az aktivitás-növekedés együtt járhat fokozott izomműködéssel (Argyropoulos, 2002). Az irodalomban található adatok alapján az éhezés alatt megfigyelhető lokomotoros aktivitás függ a táplálkozási megszorítás típusától (teljes vagy részleges éhezés) és a fizikai aktivitás

mérésének fajtájától (spontán vagy futószalagos). A jelen kísérletben megnövekedett aktivitást csak éjszaka mértünk, amire jellemző volt a folyamatos emelkedés napról napra az éhezés időtartama alatt. A nappali hipotermiát követő éjszakai normotermia jelensége felfogható egyfajta heterotermiának, szemben a torporral, amikor csupán az állatok külső ingerekre való válaszkészsége csökken (Schleucher et al., 2006).

A TRPV1-KO és vad típusú egerek éheztetésre adott termoregulációs válasza két ponton is különbözik. Egyrészt vad típusú egerekben az éheztetés hatására kialakuló hipotermia mértéke jóval nagyobb, mint TRPV1-KO egerek esetében, másrészt a vad típusnál megfigyelt időeltolódás, miszerint mind az aktivitás, mind pedig a maghőmérséklet emelkedése az éhezés során a sötét periódus kezdete előtt egyre hamarabb jelentkezett, szemben a TRPV1-KO egerekkel, melyeknél ez a jelenség nem volt megfigyelhető. Az utóbbi jelenség magyarázata kereshető egyfajta anticipációs mechanizmusban, mely a cirkadián pacemaker átállításával értelmezhető. Konstans fényben vagy konstans sötétségben tartott patkányokban hasonló jelenség volt megfigyelhető, de ezekben az állatokban a hipotalamusz ventromediális magjának léziója okozott fáziseltolódást mind a hőmérséklet cirkadián szabályozásában, mind pedig a lokomotor aktivitás vonatkozásában (Chalet et al, 1997). Kísérleteinkben azonban 12/12 órás fény/sötét ciklusok váltották egymást, és így feltételezhető, hogy a teljes éhezés okozta energiahiányos állapot indukálta a táplálékkeresés idejének eltolódását, elnyomva ezzel az endogén pacemaker stimulust, ami nem más, mint a sötétség beállta.

Az egyik ok, amiért a vad típusú egértörzset a TRPV1-KO egerekkel hasonlítottuk össze az volt, hogy korábbi eredmények szerint a TRPV1-KO állatok kevésbé hatékonyan védekeztek hőterhelés ellen, mint a vad típusú állatok (Szelényi et al., 2004b). Jelen kísérleteinkben a TRPV1-KO egerek jobban tolerálták az éhezési stresszt, mint a vad típusú egértörzs, legalábbis a maghőmérséklet stabilitásának vonatkozásában.

Jelen kíséreteinkben mindkét egértörzsben megfigyelhető volt az újratáplálást követő nagyfokú maghőmérséklet-emelkedés, melyet alig vagy egyáltalán nem követett aktivitás-fokozódás. Fontos hangsúlyozni, hogy a maghőmérséklet és az aktivitás abszolút értékeinek együttes változása az éhezés előtti és alatt nemcsak kísérleteinkben, hanem más vizsgálatokban is megfigyelhető volt (Gelegen, 2006; Murphy, 1996 és Weinert, 1998). Az újratáplálást követően azonban körülbelül egy napig nem tudtuk detektálni a hőmérséklet és az aktivitás párhuzamos növekedését.

Ezzel egyidejűleg az újratáplálás első órájában a gyors maghőmérséklet-emelkedést követően az aktivitás és hőmérséklet cirkadián ritmusa átmenetileg megszűnt, majd a következő napokon fokozatosan rendeződött.

Az aktivitás-fokozódás, mely kísérleteinkben a táplálékfelvétellel parallel történt, nem figyelhető meg az újratáplálást követően. Ugyanakkor hangsúlyozzuk, hogy az újratáplálást követően a maghőmérséklet emelkedése néhány tíz percen belül megfigyelhető volt, ami azt jelenti, hogy a táplálék még fel sem szívódott, amikor a termoregulációs változás már bekövetkezett. Ez a mechanizmus a „thermic effect of food" vagy más néven posztprandiális termogenezis. Ennek hátterében a gasztrointesztinális rendszerből származó mechanikus inger állhat, mely a gyomor telődésével áll összefüggésben (Székely et al., 2005).

5.2. Éhezési heterotermia és újratáplálás során létrejövő normotermia kialakulása egérben

Az éhezés ismerten befolyásolja a kisméretű rágcsálók hőszabályozását. Kis laboratóriumi állatoknál, például egerekben vagy patkányokban, többnapos éhezés közben homeotermia csak éjszaka tartható fenn, valószínűsíthetően a hatékony táplálékkeresés érdekében. Ezzel szemben többnapos éhezés során a nappali időszakban fokozatosan hipotermia alakul ki, mígnem olyan súlyossá válik, hogy a következő aktív periódusban az állat már nem lesz képes a normotermia elérésére (Overton és Williams, 2004). Azt látjuk tehát, hogy kistermetű rágcsálók csak az inaktív periódusukban lesznek hipotermiásak, miközben az éjszakai normotermiát vagy a fizikai aktivitásból eredő hő segítségével, vagy didergéses, illetve nem-didergéses termogenezis, esetleg ópiát-mechanizmus segítségével érik el.

Az éjszakai periódusban megnövekedett mozgási aktivitás segíti a normotermia fenntartását. Hipotézisünk szerint ehhez azonban mind a didergéses-, mind a nem-didergéses termogenezis is hozzájárulhat.

A bemutatott kísérletben azonban a sorozatos guanethidine injekciók sem az éhezés előtt, sem az éhezés alatt nem okozták a maghőmérséklet csökkenését. Valójában a guanethidine kezelés hatására az állatok az éhezés alatti nappali periódusban magasabb maghőmérsékletet értek el, mint a kontroll állatok, és az éjszakai periódusban könnyebben értek el normotermiát. Bár a guanethidine napi adagolásánál testtömegre számítva ugyanakkora dózist használtunk, mint mások az

irodalomban (Johnson et al., 1975; Mory et al., 1982; Tordoff et al., 1984), nem lehet kizárni azt a lehetőséget, hogy szignifikánsan magasabb dózisok használatával a várt irányba változott volna a maghőmérséklet alakulása. A hideg által kiváltott, szimpatikus idegrendszer által közvetített hőtermelő mechanizmus részeként a nem-didergéses hőtermelést a guanethidine feltételezhetően a jelen adagolással is gátolta (Griggio, 1982; Lowell és Spiegelman, 2000; Morrison et al., 2008), de a jelen kísérletben semleges környezeti hőmérséklet alkalmazásával nem volt szükség megnövekedett hőtermelésre.

Mephenesin perifériás infúziója az egerekben a teljes éhezési időszak alatt szignifikánsan csökkent maghőmérséklethez vezetett. A maghőmérséklet csökkenése különösen az éhezés második éjszakáján, az újratáplálás megkezdése előtt volt jellemző, ami a didergéses hőtermelés szerepére enged következtetni. A mephenesin adagolásának megválasztásánál arra törekedtünk, hogy olyan dózist válasszunk, ami a didergéses hőtermelést blokkolja ugyan, de az általános mozgásaktivitásra nincs hatással (Griggio, 1982).

Naloxone perifériás infúziójának hatása a mephenesin infúzió mellett látottakhoz hasonlóan alakult. A teljes éhezési periódusban megfigyelhető a maghőmérséklet szignifikáns csökkenése. Az ópiát-receptor blokkoló hatása az éhezés második éjszakáján különösen szembetűnő. Ez a hatás tehát arra utal, hogy ópiát-mechanizmusoknak védő szerepe lehet mind az éhezés alatti nappali hipotermia ellensúlyozásában, mind az éhezés alatti éjszakai normotermia fenntartásában. Vidal és munkatársai (1983) naloxone hatására a stressz által kiváltott hipertermia csökkenését találták, míg mások (Handler et al., 2001) nem találtak maghőmérsékleti hatást. Az utóbbi esetben a kísérletekben 1 mg/kg szubkután dózisban adták az anyagot, míg más esetben (Vidal et al., 1983) a jelen kísérletben használt nagyságrendben történt az adagolás. Lehetséges, hogy az éhezés alatti stressz ópiát-mechanizmusokra van hatással, ami a maghőmérséklet irányítását befolyásolja.

Miután a didergéses és a nem-didergéses hőtermelést gátló anyagok az éhezés első éjszakáján kis hatást gyakoroltak a maghőmérsékletek alakulására, azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a mozgási aktivitásból származó hőtermelés kritikus jelentőségű az éhezés során a maghőmérséklet normál tartományon belül tartásában. Másrészről a mephenesin hatása arra utal, hogy a didergés nagyobb szerepet játszik a második éjszaka alatt a normális testhőmérséklet fenntartásában és a nappali

hipotermiától való védelemben. Továbbá ópiát-függő mechanizmusoknak szerepe lehet az éhezéshez való hőmérsékleti adaptációban.

Helyváltoztatással járó mozgásaktivitásnak nincs szerepe az újratáplálás alatt megfigyelhető gyors maghőmérséklet-emelésében, hiszen kísérleteink szerint az ilyenkor alacsony. A maghőmérséklet-emelkedés meredeksége meglepő, ha számításba vesszük az állatok kis testtömegét. Az újratáplálás első 10-20 perce alatt az állatok gyomra telődik ugyan, de ahhoz, hogy az ekkor felszívott energia hőtermelésre fordítódjon, több időre lenne szükség. A gyomor telődése által kiváltott mediátor-felszabadulás hozzájárulhat az újratáplálási hőtermelés növeléséhez, és a normotermia visszaállításához (Gőbel et al., 2001; Székely és Szelényi, 2005), de az ezen utóbbi kísérletekben tapasztalt maghőmérséklet-emelkedés dinamikája eltér a jelen megfigyelésekétől.

Érdekes módon egyik gátló anyag sem változtatta meg az újratápláláskor az aktivitás növekedése nélkül megfigyelhető gyors maghőmérséklet-emelkedés sebességét. A folyamat mélyebb megismerése tehát a jövőben még felfedezésre vár.

5.3. Többhetes teljes éhezés egérben zsírdús táppal kiváltott elhízást követően

A teljes éhezést a múlt század hatvanas évei óta alkalmazzák súlyosan elhízott emberek testtömegének csökkentése céljából (Bray et al. 1972), és patkányokon, egereken is tesztelték. Sem az emberi gyakorlatban, sem állatkísérletekben nem ismert egyetlen olyan kizárólagos feltétel, melynek teljesülése esetén biztonsági okokból le kell állítani az éhezést. Ilyen veszély lehet a glukoneogenezis számára használható fehérjetartalékok kiürülése és a plazma elektrolitok szintjében létrejövő változások, amik akár halálhoz vezető szívritmuszavarokat idézhetnek elő. Az energiatartalékok fenyegető kiürülésének jele a normál tápon tartott egerek teljes éhezése alatt a korábbi kísérleteinkben megfigyelt hipotermia. Biotelemetriás rendszer használata logikusnak tűnt elhízott egerek esetén is, hogy a teljes éheztetés alatti maghőmérsékletben létrejött változások szoros monitorozására kerülhessen sor.

Természetes környezetükben a kistestű rágcsálók az úgynevezett torpiditás vagy heterotermia állapotába kerülnek, amikor a táplálékforrások elapadnak, vagy a környezeti hőmérséklet csökken (Geiser, 2004). Így energiát és vizet spórolhatnak a téli hónapokban, mivel a heterotermia állapotával jobban alkalmazkodhatnak a változó környezeti feltételekhez (Heldmaier et al., 2004). Nem található olyan forrás az

irodalomban, ami az egerek teljes éhezése alatt a testtömegben, maghőmérsékletben és lokomotoros aktivitásban létrejövő változásokat érdemben leírná. A jelen kísérletben a biotelemetriás vizsgálat során összefüggést találtunk a legalacsonyabb túlélhető maghőmérséklet és testtömeg között.

Adataink alapján magas zsírtartalmú diétán tartott, elhízott egerek a teljes éhezést túlélik addig, amíg a nappali maghőmérséklet 31 °C alá csökken, ami korrelál a normál tápon tartott állatokban megfigyelt, éhezés alatti túlélhető maghőmérséklettel. Hangsúlyozni kell azonban, hogy nem volt célunk az állatok túlélését vizsgálni, hiszen egy állatot sem vesztettünk el a kísérletsorozatban. A korábbi megfigyeléseink eredményeit ”mentőövként” felhasználva megakadályoztuk az állatok elhullását úgy, hogy szorosan monitoroztuk a maghőmérsékletüket, és ha a nappali maghőmérséklet elérte a 30-31°C-ot, akkor visszaadtuk a tápot az állatnak.

Míg a kontroll egerek 2-3 napig bírták a teljes éhezést, az elhízott állatok normális napi hőmérséklet-oszcillációt mutattak kb. három hétig, és csak mintegy négy hetes éhezés után csökkent maghőmérsékletük 31°C alá, mialatt az éjszakai maghőmérsékletük a normotermiás tartományban maradt. A napi maghőmérsékleti hullámzás minimum és maximum értékei közötti tartomány 1,5°C-ról 4°C-ra növekedett. A teljes éhezés alatti túlélés egy testtömeg-küszöbtől függ, amit a nappali maghőmérséklet progresszív csökkenése határoz meg mind elhízott, mind kontroll egerekben.

Ob/ob egerek esetén 16 napos teljes éhezés esetén az egerek a testtömegük 40 %-át veszítették el (Cuendet, 1975), ezekben a kísérletekben az egerek enyhén hipoglikémiásak voltak, és emellett a glükoneogenezishez szükséges szubsztrátok mennyisége az éhezés legvégéig biztosított volt. Érdekes lenne annak vizsgálata, hogy az agyi glükóz-ellátás ilyen hosszú éhezés alatt hogyan biztosított. Nem áll rendelkezésre olyan tanulmány, ahol zsírdús tápon elhízlalt egerek (vagy akár genetikus alapon elhízott egerek) esetén éhezés kapcsán a jelen kísérletben megfigyelt (64%-os) testtömeg-csökkenést értek el, vagy az egerek négy hétig bírták volna az éhezést, és az újratáplálás után visszanyerték volna eredeti testtömegüket. Figyelemre méltó, hogy a 19 g-os testtömeg egyfajta határértéknek bizonyult, amely elérése után a nappali hipotermia megfelelően súlyos szintet ér el ahhoz, hogy az újratáplálást szükségessé tegye a halálos kimenetel megakadályozása céljából. Ez a testtömeg-küszöbérték az állatok eredeti testtömegétől független volt. Hogy ez a testtömeg ún. ponderostat-ként működhet (Cabanac és Richard, 1996), melynek elérése az

anyagcsere csökkenését és a hipotermiát idézi elő, még további vizsgálatok tárgyát képezi.

5.4. Centrális CNTF infúzió hatása elhízott egerek maghőmérsékletére és lokomotoros aktivitására

A zsírdús tápon tartott egerek testtömeg-növekedésének dinamikája hasonló az ugyanebben a fajban leírt, már korábban közölt tanulmány eredményeihez (Kokoeva et al., 2005). A jelen kísérletben a napi maghőmérsékleti hullámzás szélső értékei közötti tartomány jelentős csökkenését láttuk a zsírdús táp használatának első napjától kezdve. Ennek oka a nappali maghőmérsékleti értékek emelkedése, miközben az éjszakai értékek változatlanok maradtak. A maghőmérséklet ilyen változásának magyarázatát talán abban kereshetjük, hogy diéta által indukált elhízás esetén a cirkadián ritmus változása figyelhető meg a ketrecen belül, mozgásukban nem korlátozott állatoknál (Kohsaka et al, 2007; Mendoza et al., 2008). A jelen kísérletben a használt mesterséges 12/12 órás sötét/világos környezet a cirkadián hullámzás sérüléseit elfedhette, és a nappali/éjszakai maghőmérsékletek közti kisebb ingadozás magyarázata lehet a fény/sötétség cirkadián hullámzásra kifejtett csökkent hatása.

A CNTF dózisának megválasztásánál korábbi irodalmi adatokra támaszkodtunk (Kokoeva et al., 2005), ennek megfelelően a tapasztalt testtömeg csökkenés is a leírtakhoz hasonló nagyságrendű volt. A jelen kísérletben a maghőmérséklet és a motoros aktivitás változásainak monitorozása kiegészítő adatokkal szolgál a CNTF centrális adagolásának energetikai hatásairól.

Azt találtuk, hogy a CNTF infúzió által okozott testtömeg csökkenés hátterében a magasabb energiaforgalom miatt emelkedett maghőmérséklet állhat, amit az emlősökben általánosan megfigyelt, a testtömeg és az energiaforgalom közötti negatív korreláció (Lambert et al., 2001; Janoschek et al., 2006) is alátámaszt.

A lokomotoros aktivitás csökkenése a megfigyelt maghőmérséklet emelkedéssel együtt lázas reakciónak minősíthető, ami szokásosan a fertőzéseket, gyulladásokat kíséri, és ha csökkent táplálékfelvétellel jár együtt, akkor az már betegség-viselkedésnek (sickness behavior) is tekinthető (Szelényi és Székely, 2004). A CNTF centrális adását követő lázszerű reakció hasonlít a CCK-8 vagy PGE1 (prosztaglandin E) icv adása után patkányokban megfigyelt hatáshoz (Szelényi et al, 2004). Az egerek icv CNTF infúziója alatt megfigyelt lázas állapot leírása új

eredmény, hiszen az eddigi egyetlen hasonló megfigyelés nyúlban a CNTF perifériás adagolása kapcsán található, ahol endogén pirogénként írják le a peptidet, ám emellett más, a betegség-viselkedésben szokásos változásról nincs információ (Shapiro et al., 1993). Eredményeink összeegyeztethetőek azzal az elképzeléssel, miszerint az elhízott állatok testtömegének krónikus csökkenése a CNTF centrális adagolásának hatására a hipotalamikus neurogenezis számlájára írható, de a rövidtávú lázszerű állapot a peptid gp130 receptoron kifejtett hatásából adódhat (Schuster et al., 2003).

6. AZ ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

TRPV1-KO egerekben az éheztetésre kialakuló hipotermia kevésbé kifejezett, mint vad típusú társaikban. Vad típusú egerek éhezése során megfigyeltünk időeltolódást a nokturnális ritmusban, miszerint mind az aktivitás, mind pedig a maghőmérséklet emelkedése az éhezés során a sötét periódus kezdete előtt egyre hamarabb jelentkezett, szemben a TRPV1-KO egerekkel, melyeknél ez a jelenség egyáltalán nem volt megfigyelhető.

Kistermetű rágcsálók éhezés során csak az inaktív periódusukban lesznek hipotermiásak, miközben az éjszakai normotermiát hőtermelő mechanizmusok (a fizikai aktivitásból eredő hő, didergéses illetve nem-didergéses termogenezis, és ópiát-mechanizmus) segítségével érik el.

Az éhezési periódus után az újratáplálás hatására néhány tíz percen belül normalizálódik a maghőmérséklet az aktivitás fokozódása nélkül. Ezt a gyors maghőmérséklet-emelkedést sem a guanethidine, sem a mephenesine illetve a naloxon sem változtatta meg, és a TRPV1-KO állatokban is hasonlóan alakult.

Míg a kontroll egerek 2-3 napig bírták a teljes éhezést, a zsírdús táppal elhízlalt állatok normális napi hőmérséklet-oszcillációt mutattak kb. három hétig, és csak kb. négy hetes éhezés után csökkent le a nappali maghőmérsékletük 31°C alá, mialatt az éjszakai maghőmérsékletük a normotermiás tartományban maradt. A napi maghőmérsékleti hullámzás minimum és maximum értékei közötti tartomány 1,5°C-ról 4°C-ra növekedett. Az éhezés során mindkét csoport éheztetése alatt az aktivitás fokozatos növekedése volt megfigyelhető. A 19 g-os testtömeg egyfajta határértéknek bizonyult, amelynek elérése után a nappali hipotermia megfelelően súlyos szintet ér el ahhoz, hogy az újratáplálást szükségessé tegye a halálos kimenetel megakadályozása céljából. Ez a testtömeg-küszöbérték az állatok eredeti testtömegétől független volt. Az újratáplálás után az állatok fokozatosan visszanyerték eredeti testtömegüket.

Zsírdús táp bevezetésének hatására egerekben a nappali maghőmérsékleti értékek emelkednek, miközben az éjszakai értékek változatlanok maradtak, így a hullámzás amplitúdója csökken, miközben átlagos napi hőmérsékletük emelkedett.

CNTF centrális infúziójának hatására diétásan elhízlalt egerek testtömege tartósan és jelentősen csökkent. A CNTF infúzió hatására a cirkadián hullámzás átmeneti csökkenésével párhuzamosan a nappali minimum hőmérsékleti értékek

(passzív periódus) emelkedése, és az éjszakai (aktív periódus) lokomotoros aktivitás csökkenése volt megfigyelhető, ami így együtt egy lázas reakciónak minősíthető.

Hasonló kísérletek ob/ob egereken folyamatban vannak. A jelen kutatási eredmények felhasználhatók az emberi elhízás kórélettanának pontosabb megértésében. A kórélettani mechanizmusok feltárásával a kísérletek elősegítik hatékony megelőző módszerek kifejlesztését és segíthetnek lehetséges új célmolekulák, illetve gyógyszer-támadáspontok feltárásában.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani Dr. Szelényi Zoltán Professzor Úrnak, hogy lehetőséget adott kutatási munkám elvégzéséhez, bevezetett a kísérletezés rejtelmeibe, rengeteg szakmai tudást adott át és lehetőséget biztosított külföldi konferenciákon való részvételre. Köszönöm Dr. Balaskó Mártának és Dr. Pétervári Erikának, hogy a hosszú évek munkája során mindig készen álltak az eddigi tapasztalataikat átadni, és sokszor barátként álltak mellettem. Köszönet illeti ezenkívül Prof. Székely Miklóst, Dr. Soós Szilviát és Dr. Vigh Évát jótanácsaikért, támogatásukért, emellett Dr. Garami Andrást, aki ötleteivel, kritikai megjegyzéseivel emelte a dolgozat színvonalát. Köszönöm Kocsisné Halas Ágnesnek és Szűcs Istvánné Magdi kedvességét és a precíz adminisztratív tevékenységüket, valamint az egész intézet támogatását. Itt köszönném meg a hőszabályozási labor asszisztenseinek, Dr. Garaminé Pákai Eszter, Mihálffyné Jech Andrea, Gáspárné Koncsecskó Margit és Kissné Bóka Adrienn munkáját, a kísérletek kivitelezésében való segítségét.

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

α-MSH: alfa-melanocita stimuláló hormon

BMI: body mass index, testtömegindex

CNTF: ciliáris neurotrop faktor

CCK-8: kolecisztokinin oktapeptid

Gp 130: glikoprotein 130

IL-6: interleukin-6

ip: intraperitoneális

icv: intra-cerebroventrikuláris

DIO: diet induced obesity, diéta indukálta elhízás

NPY: neuropeptid Y

POMC: proopiomelanokortin

Tc: maghőmérséklet (általában hasüregben mért)

TRPV: tranziens receptor potenciál vanilloid receptor

TRPV1 KO: Trpv1 gén-kiütött (knockout)

sc: szubkután

IRODALOMJEGYZÉK

Abe H, Honma S, Honma K-i, Daily restricted feeding resets the circadian clock in the suprachiasmatic nucleus of CS mice. Am J Physiol 2007, 292:R607-R615

Ahima RS, Kelly J, Elmquist JK, Flier JS, Distinct physiologic and neuronal responses to decreased leptin and mild hyperleptinemia. Endocrinology 1999, 140:4923-4931

Andik I, Donhoffer Sz, Farkas M, Schmidt P, Ambient temperature and survival on a protein-deficient diet. Brit J Nutr 1963, 17:257-261

Argyropoulos G, Marper M-E, Invited review, Uncoupling proteins and thermoregulation. J Appl Physiol 2002, 92:2187-2198

Boullin DJ, Costa E, Brodie BB, Apparent depletion of NE stores after repetitive stimulation of cat colon in presence of phenoxybenzamine. Int J Neuropharmacol 1966, 5:293-298

Baker AK, Meert TF, Functional effects of systemically administered agonists and antagonists of mu, delta, and kappa opioid receptor subtypes on body temperature in mice, J Pharmacol Exp Ther 2002, 302:1253-1264

Bray GA, Davidson MB, Drenick EJ, Obesity: a serious symptom. Ann Int Med 1972, 77:779-795

Brown D, Livesey G, Dauncey MJ, Influence of mild cold on the components of 24 hour thermogenesis in rats. J Physiol 1991, 441:137-154

Buettner R, Shcölmerich J, Bollheimer LC, High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. Obesity 2007, 15(4):798-808

Cabanac M, Richard D, The nature of the ponderostat: Hervey's hypothesis revisited. Appetite 1996, 26:45-54

Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D, The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. Nature 1997, 389:816-824

Caterina MJ, Transient receptor potential ion channels as participants in thermosensation and thermoregulation. Am J Physiol 2007, 292:R64-R76

Caterina MJ, Leffler A, Malmberg AB, Martin WJ, Trafton J, Petersen-Zeitz KR, Koltzenburg M, Basbaum AI, Julius D, Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. Science 2000, 288:306-313

Chalet E, Pévet P, Lakhdar-Ghazal N, Malan A, Ventromedial nuclei of the hypothalamus are involved in the phase advance of temperature and activity rhythms in food-restricted rats fed during daytime. Brain Res Bull 1997, 43:209-218

Chossat C, Recherces Experimentales sur l'inanition. Paris Impr. Royale, 1843

Cuendet GS, Loten EG, Cameron DP, Renold AE, Marliss EB, Hormone-substrate responses to total fasting in lean and obese mice. Am J Physiol 1975, 228:276-283

Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A, Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. Trends Immunol 2004, 25:4-7

Das UN, Is obesity an inflammatory condition? Nutrition 2001, 17:953-966

El-Haschimi K, Pierroz DD, Hileman SM, Bjorbaek C, Flier JS, Two defects contribute to hypothalamic leptin resistance in mice with diet-induced obesity. J Clin Inest 2000, 115:3484-3493

Febraio MA, gp130 receptor ligands as potential therapeutic targets for obesity. J Clin Invest 2007, 117:841-849

Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Johnson CL, Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2000 JAMA 2002, 288:1723-1727

Geiser F, Metabolic and body temperature reduction during hibernation and daily torpor. Annu Rev Physiol 2004, 66:239-227

Gelegen C, Collier DA, Campbell IC, Oppelaar H, Kas MJH, Behavioral, physiological, and molecular differences in response to dietary restriction in three inbred mouse starins. Am J Physiol 2006, 291:E574-E581

Girardier L, Clark MG, Seydoux J, Thermogenesis associated with spontaneous activity: an important component of thermoregulatory needs in rats. J Physiol 1995, 488:779-787

Glick SD, Hyperthermic and hypothermic effects of morphine in mice: interactions with apomorphine and pilocarpine and changes in sensitivity after caudate nucleus lesions. Arch Int Pharmacodyn 1975, 213:264-271

Gordon CJ, Temperature regulation in laboratory rodents. Cambridge University Press 1993, 107-108

Gőbel Gy, Ember Á, Pétervári E, Kis A, Székely M, Postalimentary hyperthermia: a role for gastrointestinal but not for caloric signals. J Therm Biol 2001, 26:517-529

Griggio MA, The participation of shivering and nonshivering thermogenesis in warm and cold-acclimated rats, Comp Biochem Physiol 1982, 73:481-484

Halaas JL, C Boozer, Blair-West J, Physiological response to long-term peripheral and central leptin infusion in lean and obese mice. Proc Natl Acad Sci USA 1997, 94: 8878–8883

Handler CM, Price R, Baumgart M, Law E, Geller EB, Adler MW, Effect of selective and non-selective opioids on body temperature in warm- and cold-acclimated rats. J Therm Biol 2001, 26:351-356

Heldmaier G, Ortmann S, Elvert R, Natural hypometabolism during hibernation and daily torpor in mammals. Respir Physiol Neurobiol 2004, 141:317-329

Hunt JL, Zaretsky DV, Sarkar S, Dimicco JA, Dorsomedial hypothalamus mediates autonomic, neuroendocrine and locomotor responses evoked from the medial preoptic area. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2010, 298:R130-R140

Iida T, Shimizu I, Nealen ML, Campbell A, Caterina M, Attenuated fever response in mice lacking TRPV1. Neurosci Lett 2005, 378:28-33

Janoschek R, Plum L, Koch L et al, gp130 signaling in proopiomelanocortin neurons mediates the acute anorectic response to centrally applied ciliary neurotrophic factor. PNAS 2006, 103:10707-10712

Johnson EM Jr, Cantor E, Douglas JR Jr, Biochemical and functional evaluation of the sympathectomy produced by the administration of guanethidine to newborn rats. J Pharmacol Exp Ther 1975, 193:503-512

Jordt SE, Tominaga M, Julius D, Acid potentiation of the capsaicin receptor determined by a key extracellular site. PNAS 2000, 97:8134-8139

Kohsaka A, Laposky AD, Ramsey KM, Estrada C, Joshu C, Kobayashi Y, Turek FW, Bass J, High-fat diet disrupts behavioral and molecular circadian rhythms in mice. Cell Metab 2007, 9:414-421

Kokoeva MV, Yin H, Flier JS, Neurogenesis in the hypothalamus of adult mice: potential role in energy balance. Science 2005, 310:679-683

Koubi HE, Robin JP, Dewasmes G, Le Haho Y, Frutoso J, Minaire Y, Fasting-induced rise in locomotor activity in rats coincides with increased protein utilization. Physiol Behav 1991, 50: 337-343

Kuczmarski RJ, Flegal KM, Criteria for definition of overweight in transition: background and recommendations for the United States. Am J Clin Nutr 2000, 72:1075–1081

Lambert PD, Anderson KD, Sleeman MW, Wong V, Tan J, Hijarunguru A, Corcoran TL, Murray JD, Thabet KE, Yancopoulos GD, Wiegand SJ, Ciliary neurotrophic factor activates leptin-like pathways and reduces body fat, without cachexia or rebound weight gain, even in leptin-resistant obesity. PNAS 2001, 98:4652-4657

Leon LR, Walker LD, DuBose DA, Stephenson LA, Biotelemetry transimtter implantation in rodents: impact on growth and circadian rhythms. Am J Physiol 2004, 286:R967-R974

Lin S, Thomas TC, Storlien LH, Huang XF, Development of high fat diet-induced obesity and leptin resistance in C57BL/6J mice Int J Obes 2000, 24:639-646

Lowell BB, Spiegelman BM, Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis. Nature 2000, 404:652-660

Mendoza J, Pévet P, Challet E, High-fat feeding alters the clock synchronization to light. J Physiol 2008, 586:5901-5910

Molina PE, Hashiguchi Y, Meijerink WJ, Naukam RJ, Boxer R, Abumrad NN, Modulation of endogenous opiate production: effect of fasting. Biochem Biophys Res Commun 1995, 207(1):312-317

Moreno-Aliaga MJ, Campion J, Milagro F, Berjon A, Martinez JA Adiposity and proinflammatory state: the chicken or the egg Adipocytes 2005, 1:1-13

Morrison SF, Nakamura KI, Madden CJ, Central control of thermogenesis in mammals. Exp Physiol 2008, 93:773-797

Mory G, Ricquier D, Nechad M, Hemon P, Impairment of trophic responses of brown fat to cold in guanethidine-treated rats. Am J Physiol 1982, 242:C159-C165

Murphy PJ, Campbell SS, Physiology of the circadian system in animals and humans. J Clin Neuophysiol 1996, 13:2-16

Mount LE, Willmott JV, The relation between spontaneous activity, metabolic rate and the 24 hour cycle in mice at different environmental temperatures. J Physiol 1967, 190(2):371-380

Nagashima KS, Nakai K, Matsue M, Konishi M, Tanaka K, Kanosue K, Effects of fasting on thermoregulatory processes and daily oscillations in rats. Am J Physiol 2003, 284:R1486-R1493

Ogden CL, Yanovski SZ, Carroll MD, Flegal KM, The epidemiology of obesity. Gastroenterology 2007, 132:2087-2102

Overton JM, Williams TD, Behavioral and physiologic responses to caloric restriction in mice. Physiol Behav 2004, 81:749-747

Pétervári E, Balaskó M, Szelényi Z, Hummel Z, Székely M, Fasting hypometabolism and thermoregulation in cold-adapted rats. J Therm Biol 2002, 27:359-364

Prudian F, Gantenbein M, Pellissier AL, Attolini L, Bruguerolle B, Daily rhythms of heart rate, temperature and locomotor activity are modified by anaesthetics is rats: a telemetric study. Nauny-Schmiederberg's Arch 1997, 355:774-778

Rana JS, Nieuwdorp M, Jukema JW, Kastelein JJ, Cardiovascular metabolic syndrome - an interplay of, obesity, inflammation, diabetes and coronary heart disease. Diabetes Obes Metab 2007, 9:218-232

Refinetti R, Menaker M, The circadian rhythm of body temperature, Physiol Behav 1992, 51:613-637

Romanovsky AA, Do fever and anapyrexia exist? Analysis of set point-based definitions. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2004, 287:R992-995

Romanovsky AA, Thermoregulation: some concepts have changed. Functional architecture of the thermoregulatory system. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2007, 292:R37-R46

Schleucher E, Prinziger R, Heterothermia and torpor in birds: highly specialized physiological ability or just deep "nocturnal hypothermia"? – The limitations of terminology. Acta Zool Sin 2006, 52:S393-S396

Schuster B, Kovaleva M, Sun Y, Regenhard P, Matthews V, Grötzinger J, Rose-John S, Kallen K-J, Signaling of human ciliary neurotrophic factor (CNTF) revisited. The interleukon-6 receptor can serve as an α-receptor for CNTF. J Biol Chem 2003, 278:9528-9535

Severisen T, Munch IC, Body core temperature during food restrictions in rats. Acta Physiol Scand 1999, 165:299-305

Shapiro L, Zhang X-X, Rupp RG, Wolff SM, Dinarello CA, Ciliary neurotrophic factor is an endogenous pyrogen. Proc Natl Acad Sci. USA 1993, 90:8614-8618

Sleeman MW, Anderson KD, Lambert PD, Yancopoulos GD, Wiegand SJ, The ciliary neurotrophic factor and its receptor, CNTFR alpha. Pharm Acta Helv 2000, 74(2-3):265-272

Steiner AA, Turek VF, Almeida MC, Burmeister JJ, Oliveira DL, Roberts JL, Bannon AW, Norman MH, Louis JC, Treanor JJ, Gavva NR, Romanovsky AA, Nonthermal activation of transient receptor potential vanilloid-1 channels in

abdominal viscera tonically inhibits autonomic cold-defense effectors. J Neurosci 2007, 27:7459-7468

Stunkard AJ, Curent views on obesity. Am J Med 1996, 100:230-236

Stunkard AJ, Sorensen TI, Hanis C, Teasdale TW, Ranajit C, Schull WJ, Schulsinger F, An adoption study of human obesity. N Engl J Med 1986, 314:193-198

Szelényi Z, Hummel Z, Székely M, Pétervári E, CCK-8 and PGE1: central effects on circadian body temperature and activity in rats. Physiol Behav 2004a, 81:615-621

Szelényi Z, Hummel Z, Szolcsányi J, Davis JB, Daily body temperature rhythm and heat tolerance in TRPV1 knockout and capsaicin pre-treated mice. Eur J Neurosci 2004b, 19:1421-1424

Szelényi Z, Barthó L, Székely M, Romanovsky AA, Cholecystokinin octapeptide (CCK-8) injected into a cerebral ventricle induces a fever-like thermoregulatory response mediated by type B CCK-receptors in the rat. Brain Res 1994, 638:69-77

Szelényi Z, Donhoffer S, The thermogenetic function of brown adipose tissue and the response of body temperature to hypoxia and hypercapnia in the cold- and warm-adapted rat. Acta Physiol Acad Sci Hung 1968, 33(1):31-39

Szelényi Z, Székely M, Sickness behavior in fever and hyperthermia. Front Biosci 2004, 9:2447-2456

Szentirmai E, Kapás L, Sun Y, Smith RG, Krueger JM, Restricted feeding-induced sleep, activity, and body temperature changes in normal and preproghrelin-deficient mice. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2010, 298(2):R467-R477

Székely M, Szelényi Z, Regulation of energy balance by peptides: a review. Curr Prot Pept Sci 2005, 6:327-353

Székely M, Pétervári E, Pákai E, Hummel Z, Szelényi Z, Acute, subacute and chronic effects of central neuropeptide Y on energy balance in rats. Neuropeptides 2005, 39(2):103-115

Székely M, Szelényi Z, Sümegi I, Brown adipose tissue as a source of heat during pyrogen-induced fever. Acta Physiol Acad Sci Hung 1973, 43(1):85-88

Swoap SJ, Gutilla MJ, Cardiovascular changes during daily torpor in the laboratory mouse. Am J Physiol 2009, 297:R769-R774

Tordoff MG, Glick Z, Butcher LL, Novin D, Guanethidine sympathectomy does not prevent meal-induced increases in the weight or oxygen consumption of brown fat. Physiol Behave 1984, 33:975-979

Vacher CM, Crépin D, Aubourg A, Couvreur O, Bailleux V, Nicolas V, Férézou J, Gripois D, Gertler A, A putative physiological role of hypothalamic CNTF in the control of energy homeostasis. Taouis M. FEBS Lett 2008, 582(27):3832-3838

Vidal C, Suaudeau C, Jacob J, Hyper- and hypothermia induced by non-noxious stress: effects of naloxone, diazepam and γ-acetylenic GABA. Life Sci 1983, 33:587-590

Wang T, Hung CCY, Randall SJ, The comparative physiology of food deprivations: from feast to famine. Ann Rev Physiol 2006, 68:223-251

Wardle J, Carnell S, Haworth CM, Plomin R, Evidence for a strong genetic influence on childhood adiposity despite the force of the obesogenic environment. Am J Clin Nutr 2008, 87:398-404

Weaver DR, Stehle JH, Stopa EG, Reppert SM, Melatonin receptors in human hypothalamus and pituitary: implications for circadian and reproductive responses to melatonin. J Clin Endocrinol Metab. 1993, 76(2):295-301

Weinert D, The temporal order of mammals. Evidence for multiple central and peripheral control mechanisms and for endogenous and exogenous components: some implications for research on aging. Biol Rhythm Res 2005, 36:293-308

Weinert D, Waterhouse J, Diurnally changing effects of locomotor activity on body temperature in laboratory mice. Physiol Behav 1998, 63:837-843

Weiser M, Frishman WH, Michealson MD, Abdeen MA, The pharmacologic approach to the treatment of obesity. J Clin Pharmac 1997, 37:453-473

Wiklund P, Toss F, Weinehall L, Hallmans G, Franks PW, Nordström A, Nordström P, Abdominal and gynoid fat mass are associated with cardiovascular risk factors in men and women. J Clin Endocrinol Metab 2008, 93:4360-4366

Williams TD, Chambers JB, Henderson RP, Rashotte ME, Overton JM, Cardiovascular responses to caloric restriction and thermoneutrality in C57BL/6J mice. Am J Physiol 2002, 282:R1459-R1467

Wyatt SB, Winters KP, Dubbert PM, Overweight and obesity: prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem. Am J Med Sci 2006, 331(4):166-174

Zarrindast MR, Vahedy A, Heidari MR, Ghazi-Hkonsari M, On the mechanism(s) of morphine-induced hypothermia. J Psychopharmacol 1994, 8:222-226

PUBLIKÁCIÓK

Tudományos paraméterek:	Eredeti közlemények összesített impakt faktora:	**12,726**
	Absztraktok összesített impakt faktora:	**15,329**
	Független idézettség:	**5**

A DOLGOZAT TÉMÁJÁVAL KAPCSOLATOS PUBLIKÁCIÓK

Referált folyóiratban megjelent közlemények:

1. Kanizsai P, Garami A, **Solymár M**, Szolcsányi J, Szelényi Z: Energetics of fasting heterothermia in TRPV1-KO and wild type mice.
Physiol. Behav. 96 (2009)149-54 **IF: 3,295**

Független citációk:

Liu DL et al. Research progress in transient receptor potential vanilloid 1 of sensory nervous system, Neuroscience Bulletin 25, 221-227 (2009)

Glanville EJ, Seebacher F, Advantage to lower body temperatures for a small mammal (Rattus fuscipes) experiencing chronic cold, Journal of Mammalogy 91, 1197-1204 (2010)

Steiner A. et al. The hypothermic response to bacterial lipopolysaccharide critically depends on brain CB1, but not CB2 or TRPV1, receptors, The Journal of Physiology 589, 2415-2431 (2011)

Maloney SK. Et al. Minimum daily core body temperature in western grey kangaroos decreases as summer advances: a seasonal pattern, or a direct response to water, heat or energy supply? Journal of Experimental Biology 214, 1813-1820 (2011)

2. **Solymár M**, Kanizsai P, Pétervári E, Garami A, Szelényi Z: Mechanism of fasting heterothermia and re-feeding normothermia in mice *J. Therm. Biol.* 35 (2010) 280-283

IF: 1,273 (2010)

3. **Solymár M**, Szelényi Z, Petervari E: A fever-like effect of central infusion of CNTF in freely moving mice with diet-induced obesity. *J. Mol. Nerusosci.* 45 (2011) 212-5

IF: 2,922 (2010)

4. **Solymár M**, Pétervári E, Szelényi Z: A month-long total fasting followed by re-feeding in mice with diet-induced obesity: is daily torpor regulated by remaining body mass? *J. Comp. Physiol. B (submitted)*

***Idézhető előadáskivonatok*:**

1. **Solymár M**, Kanizsai P, Pétervári E, Garami A, Szelényi Z: Mechanism of fasting heterothermia and refeeding normothermia in mice. *Acta Physiol. Hung.* 96 (2009) 125-126 **IF: 0,750**

2. **Solymár M**, Szelényi Z: Effects of central infusion of CNTF on the energetics of obese mice. Biotelemetric studies. *Frontiers in Systems Neuroscience. Conference Abstract: 12th Meeting of the Hungarian Neruroscience Society*. (2009) doi: 10.3389/conf.neuro.01.2009.04.019

3. **Solymár M**, Szelényi Z: Effects of intracerebroventricular infusion of ciliary neurotropic factor on the energetics of obese mice. *Acta Physiol. Hung.* 97 (2010) 133-34

IF: 1,226

4. **Solymár M**, Szelényi Z: Effects of central infusion of CNTF on the energetics of obese mice. Biotelemetric studies. *Neuropeptides* 44 (2010) 536

IF: 1,917

5. **Solymár M**, Pétervári E, Szelényi Z: Complete fasting for several weeks in obese mice. *Acta Physiol. Hung.* 97/4 (2010) 472 **IF: 1,226**

6. **Solymár M**, Párniczky A, Pétervári E, Szelényi Z: One-month long total fasting in ob/ob mice – a biotelemetric study. *Acta Physiol.* 202/S684 (2011) 106 **IF: 3,138**

NEM A DOLGOZAT TÉMÁJÁVAL KAPCSOLATOS PUBLIKÁCIÓK

Referált folyóiratban megjelent közlemények:

1. Kanizsai P, Vámos Z, **Solymár M** , Garami A, Szelényi Z: Effects of repeated surgical stress on daily changes of body core temperature in mice.
Acta Physiol. Hung. 97 (2010) 203-10 **IF: 1,226 (2010)**

2. Garami A, Balaskó M, Székely M, **Solymár M**, Pétervári E: Fasting hypometabolism and refeeding hyperphagia in rats: effects of capsaicin desensitization of the abdominal vagus. *Eur. J. Pharmacol.* 644 (2010) 61-66 **IF: 2,737 (2010)**

Független citáció:

Scott V, Brown CH: Kisspeptin activation of supraoptic nucleus neurons in vivo. Endocrinology 152(2011) 3862-70

3. **Solymár M,** Párniczky A, Hamar J, Koller Á: A plazma magas homocysteinszintje és a kardiovaszkuláris betegségek. A terápia eredményességének és hatástalanságának rejtélye. *Kardiovaszkuláris prevenció és rehabilitáció* I/61 (2011) 27-31

4. Pétervári E, Balaskó M, **Solymár M**, Párniczky A, Székely M, Szelényi Z: CCK-8 induces fever-like regulated hyperthermia and symptoms of sickness behavior in mice: A biotelemetric study. *J. Therm. Biol.* doi:10.1016/j.jtherbio.2011.07.013
IF: 1,273 (2010)

***Idézhető előadáskivonatok*:**

1. **Solymár M**, Garami A, Pákai E, Szelényi Z: Development of cold-acclimation in the rat and mouse. Biotelemetric study of core temperature and activity.
Acta Physiol. Hung. 94 (2007) 390 **IF: 0,453**

2. **Solymár M,** Garami A, Pákai E, Szelényi Z: Comparison of energetics of short-term cold-acclimation in the rat and mouse biotelemetric studies.
Clin. Neurosci. / Ideggyógy. Szle. 61 (2008) (S1): 58

3. Vámos Z, Vinagre JM, **Solymár M**, Balaskó M, Pétervári E, Székely M: Factors of energy balance during central leptin infusion.
Clin. Neurosci. / Ideggyógy. Szle (2008) 61/1

4. **Solymár M**, Garami A, Pákai E, Szelényi Z: Comparison of energetics of short-term cold-acclimation in the rat and mouse. Biotelemetric studies.
FENS Abstr. Vol 4 (2008) 194.13

5. Balaskó M, Vinagre JM, Pétervári E, **Solymár M**, Vámos Z, Székely M: Relationship between the effects of a central leptin infusion and the feeding state of rats.
Acta Physiol. Hung. 96 (2009) 55-56 **IF: 0,750**

6. Cséplő P, Garami A, **Solymár M**, Balaskó M, Pétervári E, Székely M: Feeding pattern after intraperitoneal capsaicin desensitization in rats.
Frontiers in Systems Neuroscience. Conference Abstract: 12th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society. (2009) doi: 10.3389/conf.neuro.01.2009.04.006

7. Székely M, Bartha ZL, Garami A, **Solymár M**, Balasko M: Thermoregulatory effects of central CRF administration.
Frontiers in Systems Neuroscience. Conference Abstract: 12th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society. (2009) doi: 10.3389/conf.neuro.01.2009.04.003

8. **Solymár M**, Hamar J, Koller Á: Comparison of antioxidant effects of superoxide dismutase (SOD) and hydrogen sulphide (H2S) in isolated small veins
Cardiol. Hung. 40 (2010) G48

9. **Solymár M**, Tanai E, Hamar J, Koller Á: Comparison of antioxidant effects of hydrogen sulphide and superoxide dismutase in isolated small veins
Kidney Blood Press. Res. (2010) 33:432 DOI: 10.1159/000321436 **IF: 1,50**

10. Soós S, **Solymár M**, Balaskó M, et al.: The role of somatostatin type 4 receptors in cholecystokinin fever. *Acta Physiol. Hung.* 97/4 (2010) 473 **IF: 1,226**

11. Tanai E, **Solymár M,** Hamar J, Koller Á: Comparison of antioxidant effects of hydrogen sulphide (H_2S) and superoxide dismutase (SOD) in isolated small veins.
Acta Physiol. Hung. 97/4 (2010) 481 **IF: 1,226**

12. Barcza Zs, **Solymár M**, Helyes Zs, Pétervári E, Szelényi Z, Székely M: Somatostatin receptor type 4 in the regulation of energy metabolism.
Neuropeptides 44 (2010) 53 **IF: 1,917**

13. Párniczky A, **Solymár M**, Miseta A, Lenkey Zs, Szabados S, Cziráki A, Koller Á. A perikardiális folyadék összetétele koszorúér revaszkularizációs műtéten (CABG) és műbillentyű beültetésen átesett (VR) betegekben.
Érbetegségek XVIII/Suppl.1 (2010) 21

14. Párniczky A, **Solymár M**, Vigh É, Miseta A, Németh Á, Lenkey Zs, Szabados S, Cziráki A, Koller Á. A perikardiális folyadék összetétele koszorúér-revaszkularizációs műtéten (CABG) és műbillentyű-beültetésen átesett (VR) betegekben.
Cardiol. Hung. 39 (2011) F39

15. **Solymár M**, Tanai E, Párniczky A, Porpáczy A, Hamar J, Koller Á. Comparison of antioxidant effects of hydrogen sulphide (H2S) and superoxide dismutase (SOD) in isolated carotid arteries.
Acta Physiol. 202/S684 (2011) 107 **IF: 3,138**